



TUGAS AKHIR - SB141510

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK IKAN GABUS  
(*Channa striata*) TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN PADA ORGAN TESTIS TIKUS (*Rattus  
norvegicus*) HIPERGLIKEMIK**

AYU SEKARTAJI K. H. K  
1511 100 078

Dosen Pembimbing  
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si

Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2016



FINAL PROJECT - SB141510

# THE SNAKEHEAD (*Channa striata*) EXTRACT EFFECT TO THE TESTICULAR ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HYPERGLYCEMIC RATS (*Rattus norvegicus*)

AYU SEKARTAJI K. H. K  
1511 100 078

Advisor Lecturer  
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si

Biology Department  
Mathematic and Natural Science Faculty  
Sepuluh Nopember Institute of Technology  
Surabaya 2016

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK IKAN  
GABUS (*Channa striata*) TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN PADA ORGAN TESTIS TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) HIPERGLIKEMIK**

**TUGAS AKHIR**

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
Pada  
Jurusan S-1 Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

**AYU SEKARTAJI K. H. K.**  
**NRP. 1511 100 078**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:

Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si., ..... (Pembimbing)

Sepuluh Nopember, 18 Januari 2016

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.  
NIP. 19601121 199802 2 001

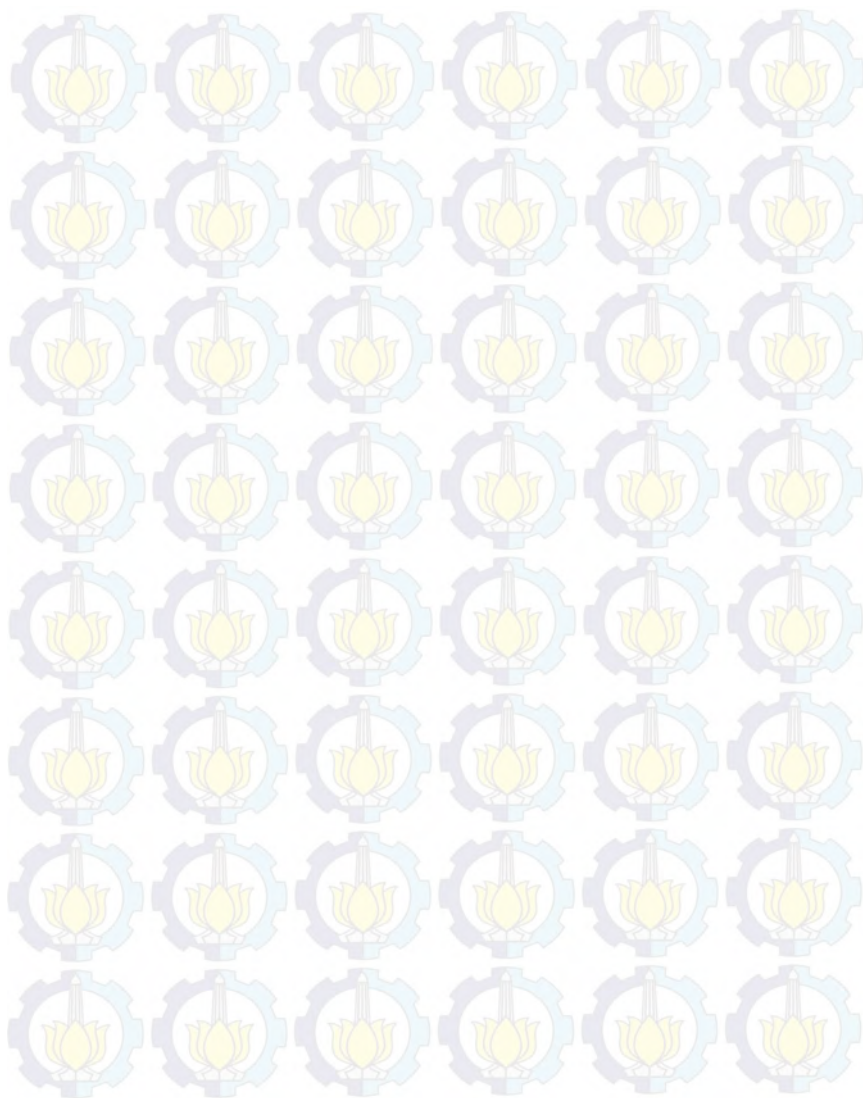
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK IKAN GABUS  
(*Channa striata*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
PADA ORGAN TESTIS TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
HIPERGLIKEMIK**

**Nama Mahasiswa** : Ayu Sekartaji K. H. K.  
**NRP** : 15 11 100 078  
**Jurusan** : Biologi  
**Dosen Pembimbing** : Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.

**Abstrak.**

*Kondisi hiperglikemik pada diabetes melitus menyebabkan peningkatan produksi Reactive Oxygen Species (ROS). Penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa kerusakan jaringan testis tikus akibat hiperglikemik mengalami pemulihan setelah pemberian terapi Ekstrak Ikan Gabus (EIG). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui serta membuktikan adanya pengaruh pemberian terapi EIG terhadap aktivitas antioksidan pada organ testis tikus (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik melalui pengukuran konsentrasi malondialdehida (MDA) menggunakan metode uji Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis terapi EIG yang diberikan, maka konsentrasi MDA yang terbentuk akan semakin rendah. Konsentrasi MDA pada tikus hiperglikemik dengan terapi EIG dosis atas (DA) (71,43 nmol/ml) tidak berbeda nyata dengan tikus non-hiperglikemik atau kontrol negatif (KN) (55,31 nmol/ml). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi EIG pada dosis atas (2,1 ml/hari) dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (menurunkan stres oksidatif) pada organ testis tikus hiperglikemik.*

*Kata kunci: antioksidan, ekstrak ikan gabus, hiperglikemik, malondialdehida, testis*





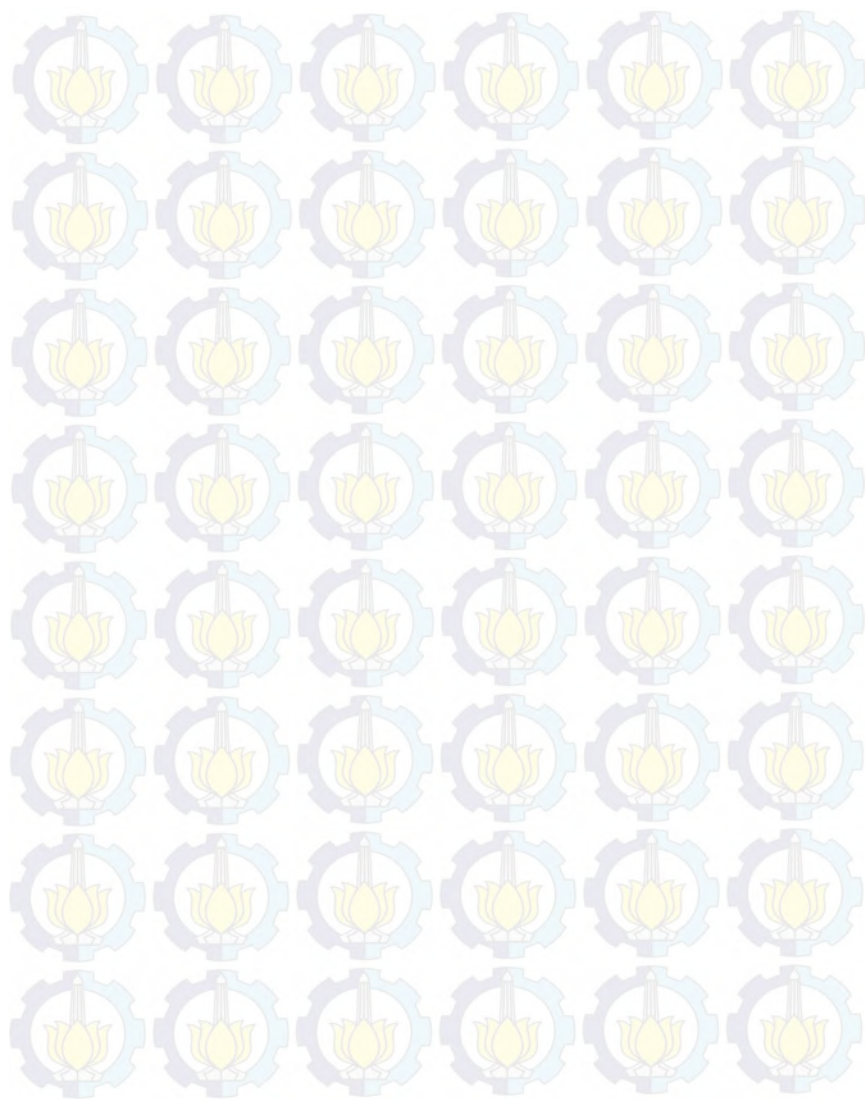
**THE SNAKEHEAD (*Channa striata*) EXTRACT EFFECT  
TO THE TESTICULAR ANTIOXIDANT ACTIVITY OF  
HYPERGLYCEMIC RATS (*Rattus norvegicus*)**

**Student Name** : Ayu Sekartaji K. H. K  
**NRP** : 1511 100 078  
**Department** : Biology  
**Advisor Lecturer** : Dr. Dewi Hidayati S.Si., M.Si.

**Abstract**

Hyperglycemic in diabetes mellitus generates the increasing of Reactive Oxygen Species (ROS). The aim of research is to determine and prove the therapeutic effect of SHE to the antioxidant activity in testis of hyperglycemic rats (*Rattus norvegicus*) by measuring the concentration of malondialdehyde (MDA) using the method Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) test. The research indicated that the increasing of SHE therapeutic doses is followed by declining of MDA concentration. The highest doses of SHE therapy of MDA formed would be lower. MDA concentration in hyperglycemic rats testis with high doses SHE therapy (2.1 ml/day) showed the significant effect to lowering the MDA concentration (71.43 nmol/ml) of hyperglycemic rats and not significantly different with MDA concentration in non-hyperglycemic rats (55.31 nmol/ml). This suggests that therapy at high doses of SHE can increase the antioxidant activity (lower the oxidative stress) in testes of hyperglycemic rats.

**Keywords:** antioxidant, hyperglycemic, malondialdehyde, testis, snakehead extract



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Organ Testis Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik**. Tugas Akhir ini merupakan salah satu syarat yang harus ditempuh untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

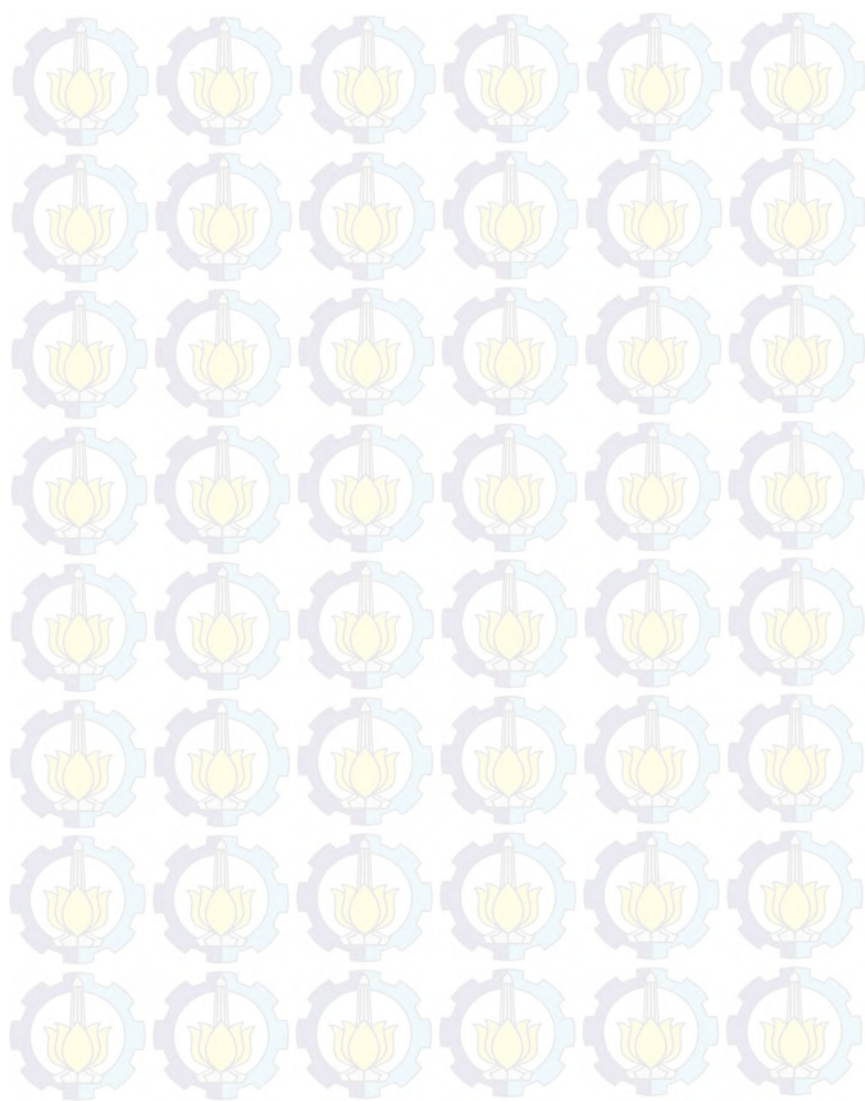
Proses penyusunan Tugas Akhir ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing Tugas Akhir, Bapak Dr. Nurul Jadid, S.Si., M.Sc dan Ibu Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, S.Si., M.Si selaku dosen penguji Tugas Akhir. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada keluarga tercinta (Ibu, Romo, Mas Yoga, Mbak Ajeng, Aza) yang senantiasa mendoakan dan memberikan motivasi, teman-teman *Zoology Project Team 2015*, keluarga B-14 *Scylla serrata* dan seluruh pihak yang telah mendukung dan membantu dalam penyusunan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat berarti bagi penulis dan semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat untuk penulis sendiri maupun pembaca.

Surabaya, 18 Januari 2016

Penulis





## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN .....	i
ABSTRAK .....	iii
<i>ABSTRACT</i> .....	v
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Permasalahan .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan .....	4
1.5 Manfaat .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ayam Broiler .....	5
2.2 DOC ( <i>Day Old Chick</i> ) dan Penampilan Produksi Ayam Broiler .....	5
2.3 Nutrisi dan Pakan Ayam Broiler .....	7
2.4 Potensi Limbah Bulu Ayam .....	9
2.5 Keratin .....	11
2.6 Mikroorganisme Keratinolitik <i>Bacillus</i> sp .....	12
2.7 Keratinase .....	14
2.6 Optimasi Produksi Enzim Keratinase .....	14
2.8 Aktivitas Enzim Keratinase .....	15
<b>BAB III METODOLOGI</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
3.2 Metode yang Digunakan .....	17
3.2.1 Produksi Enzim Keratinase oleh <i>Bacillus</i> sp .....	17
3.2.1.1 Preparasi Tepung Bulu ( <i>Feather Meal</i> ) .....	17
3.2.1.2 Peremajaan dan Aklimatisasi <i>Bacillus</i> sp .....	17

3.2.1.3 Preparasi Starter <i>Bacillus</i> sp .....	18
3.2.1.4 Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase .....	18
3.2.2 Purifikasi Enzim Keratinase <i>Bacillus</i> sp .....	19
3.2.3 Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase .....	19
3.2.3.1 Aktivitas Enzim Keratinase .....	20
3.2.3.2 Kadar Protein Enzim Keratinase .....	20
3.2.4 Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam .....	21
3.2.5 Kadar Protein Terlarut .....	22
3.2.7 Perlakuan Pemberian Pakan Ayam Broiler .....	22
3.2.8 Pengamatan Penampilan Produksi Ayam Broiler.....	23
3.2.8.1 Konsumsi Pakan Ayam Broiler .....	23
3.2.8.2 Pertambahan Berat Badan (PBB) Ayam Broiler ...	23
3.2.8.3 Konversi Pakan Ayam Broiler.....	24
3.3 Rancangan Percobaan dan Analisa Data .....	24
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase. ....	25
4.2 Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase ..	27
4.3 Tingkat Kadar Protein Terlarut Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam .....	28
4.4 Uji Biologis Pakan Ayam Terhadap Penampilan Produksi Ayam Broiler .....	29
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	37
<b>LAMPIRAN</b> .....	49
<b>BIODATA PENULIS</b> .....	79





## DAFTAR TABEL

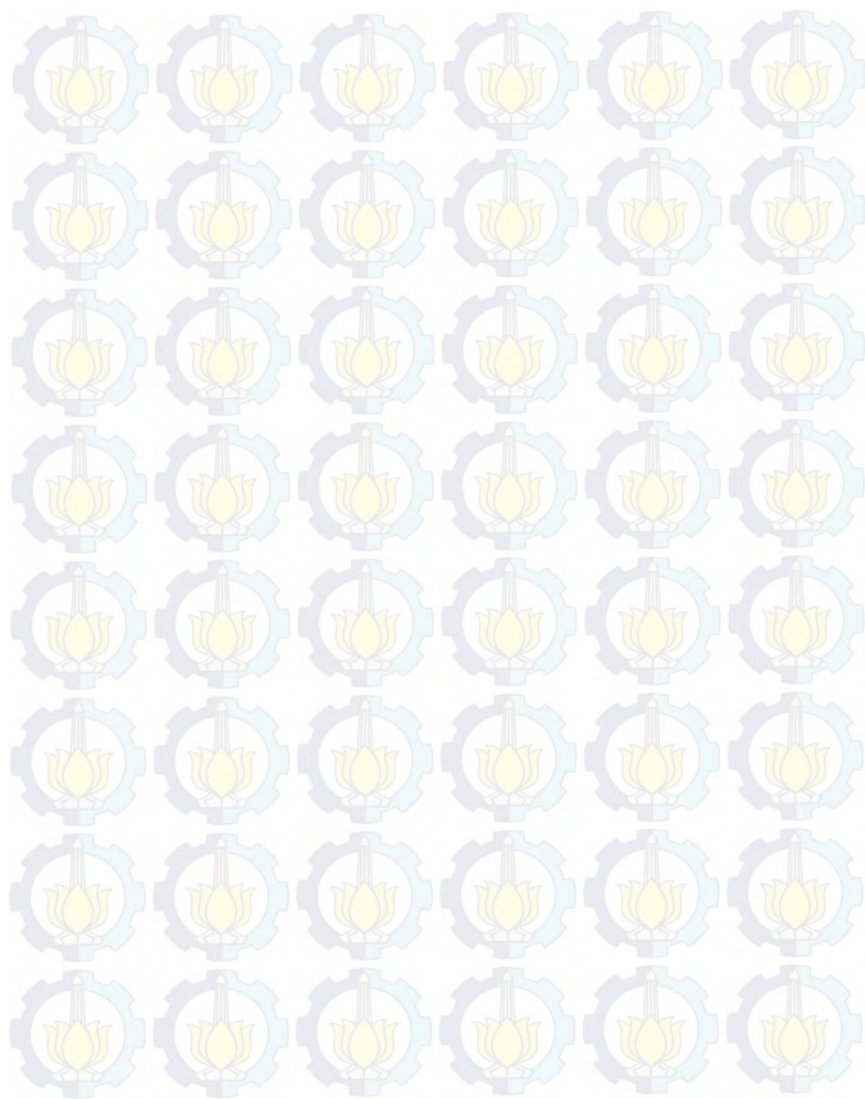
Halaman

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi Ekstrak Ikan Gabus..... 19

Tabel 2.2 Komposisi Asam Amino Albumin Ikan Gabus ..... 20

Tabel 4.1 Pengaruh Pemberian Terapi EIG Terhadap Konsentrasi MDA Testis Tikus ..... 26





## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1: Konversi Perhitungan Dosis .....	45
Lampiran 2: Skema Kerja .....	46
Lampiran 3: Perhitungan Dosis <i>Alloxan monohydrate</i> .....	47
Lampiran 4: Perhitungan Dosis Terapi Ekstrak Ikan Gabus (EIG) .....	48
Lampiran 5: Data Nilai Konsentrasi MDA .....	49
Lampiran 6: Hasil Uji ANOVA <i>One- Way</i> Konsentrasi MDA.....	50
Lampiran 7: Hasil Uji Tukey Konsentrasi MDA.....	52

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Diabetes melitus merupakan penyakit yang berkaitan dengan kelainan metabolik. Umumnya diabetes melitus ditandai dengan peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah (hiperglikemik) (Sexton and Jarow *dalam* Armagan *et al.*, 2006). Hiperglikemik terjadi karena gangguan produksi dan sekresi insulin atau resistensi insulin (Soviana dkk., 2014). Kondisi hiperglikemik pada diabetes melitus menyebabkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) seperti superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ), radikal hidroksil ( $OH^{\bullet}$ ), serta hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) (Niedowicz and David, 2005; Soviana dkk., 2014).

Peningkatan produksi ROS menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel sehingga akan meningkatkan malondialdehid (MDA) sebagai hasil peroksidasi lipid (Maslachah dkk., 2008; Soviana dkk., 2014). Pada kondisi hiperglikemik, peningkatan produksi ROS yang melebihi kapasitas antioksidan sel menyebabkan peningkatan stres oksidatif yang diiringi dengan terjadinya disfungsi serta kerusakan pada sel jaringan (Palmeira *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2005; Koya *et al.*, *dalam* Forbes *et al.*, 2008; Maslachah dkk., 2008).

Disfungsi seksual pada diabetes melitus merupakan salah satu komplikasi diabetes yang paling umum, dimana stres oksidatif berperan penting dalam patogenesisnya (Fatani *et al.*, 2015). Amaral *et al.*, (2008), menyatakan bahwa prevalensi terjadinya disfungsi seksual pada pria diabetes hampir mencapai 50%, sedangkan pada wanita diabetes memiliki prevalensi yang lebih rendah dibandingkan dengan pria diabetes. Sekitar 90% pria diabetes mengalami disfungsi seksual yang meliputi disfungsi testis, impotensi, dan penurunan tingkat fertilitas. Selain itu, Kanter *et al.*, (2012) juga menyatakan bahwa dampak yang ditimbulkan akibat penyakit diabetes melitus, terutama pada organ testis diantaranya ialah mengecilnya ukuran serta berat

testis, peningkatan abnormalitas pada spermatogenesis yang ditandai dengan menurunnya jumlah sperma yang dihasilkan. Peningkatan jumlah sel yang mengalami apoptosis pada sel germinal (terutama spermatogonium dan spermatosit) dalam tubulus seminiferus telah dilaporkan juga terjadi pada hewan uji tikus diabetes (Amaral *et al.*, 2006).

Perlu adanya upaya penyembuhan penyakit diabetes terutama dalam meminimalisir terjadinya stres oksidatif akibat produksi ROS berlebih pada penderita diabetes. Antioksidan mampu berperan dalam menekan produksi ROS sehingga stres oksidatif suatu sel pun juga akan menurun seiring dengan menurunnya produksi ROS. Penggunaan bahan alami sebagai sumber antioksidan menjadi salah satu solusi alternatif dalam penyembuhan penyakit diabetes, salah satunya adalah Ekstrak Ikan Gabus (EIG). Berdasarkan penelitian Abdulgani dkk (2014), telah dibuktikan bahwa pemberian terapi EIG mampu meregenerasi sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus testis mencit hiperglikemik pada pemberian terapi EIG dosis atas 0,14846 ml/hari. Hal tersebut diduga karena adanya aktivitas antioksidan pada EIG. Pada ikan gabus terkandung asam amino glutamin, sistein, dan glisin yang merupakan prekursor antioksidan *glutathione* (GSH) (Sunanrno, 2016). GSH merupakan salah satu antioksidan yang berperan dalam mereduksi senyawa radikal yang dapat merusak sel menjadi senyawa non radikal (tidak berbahaya bagi komponen sel) (Berg *et al.*, 2012).

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan EIG pada organ testis tikus hiperglikemik.

## **1.2 Rumusan Permasalahan**

EIG mengandung albumin yang berperan penting dalam perbaikan sel jaringan yang rusak pada penderita hiperglikemik. Hal ini didukung dengan penelitian pendahuluan yang menunjukkan adanya perbaikan sel spermatogenik pada testis mencit. Namun belum diketahui adanya aktivitas antioksidan



pada organ testis setelah pemberian EIG yang berperan dalam perbaikan sel tersebut. Sehingga dapat dirumuskan permasalahan bagaimana aktivitas antioksidan dalam testis penderita hiperglikemik setelah pemberian EIG.

### 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini meliputi:

1. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dengan jenis kelamin jantan.
2. Senyawa diabetogenik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *alloxan monohydrate*.
3. Senyawa penanda yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah Malondialdehida (MDA).

### 1.4 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian EIG terhadap kadar MDA pada organ testis tikus hiperglikemik serta mengetahui pengaruh dosis EIG terhadap aktivitas antioksidan pada organ testis tikus hiperglikemik.

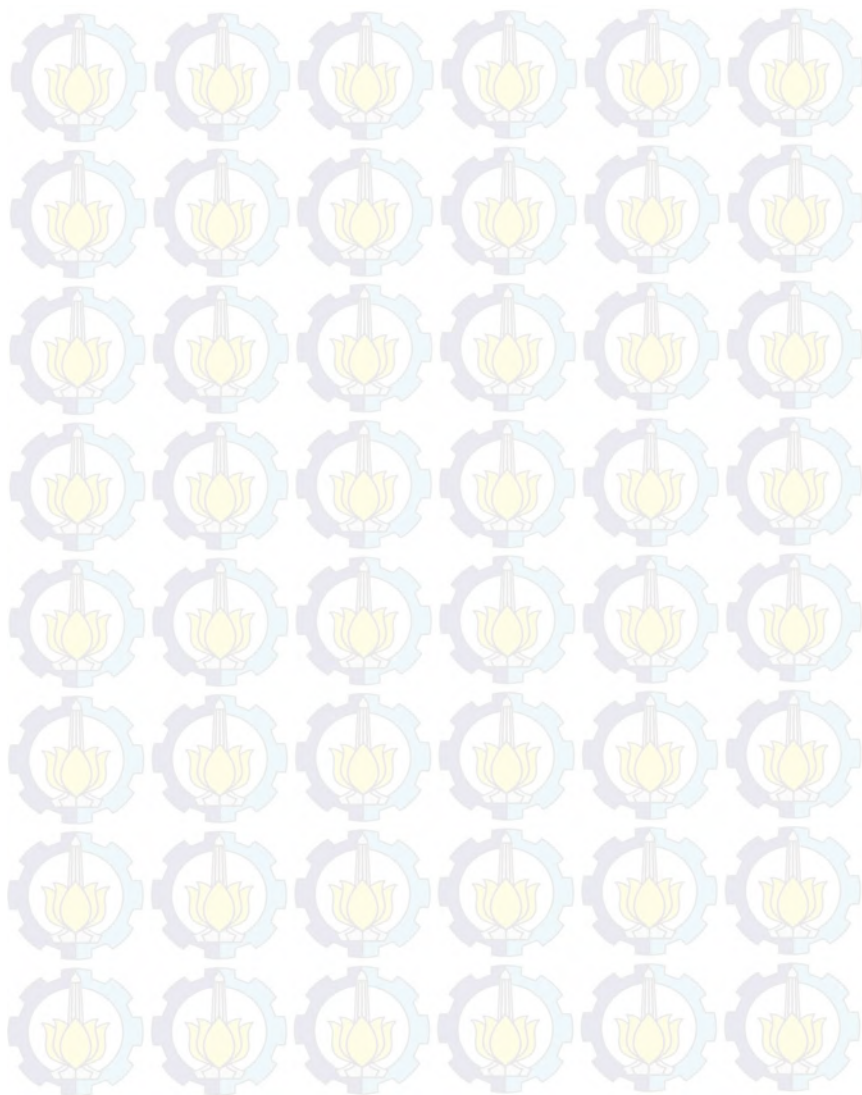
### 1.5 Manfaat

Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya:

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak ikan gabus sebagai antioksidan hewani yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk penyakit diabetes dan penyakit turunannya.
2. Membantu mengatasi permasalahan penyediaan obat yang alami, murah, dan mudah didapat untuk diabetes dan penyakit turunannya.



**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

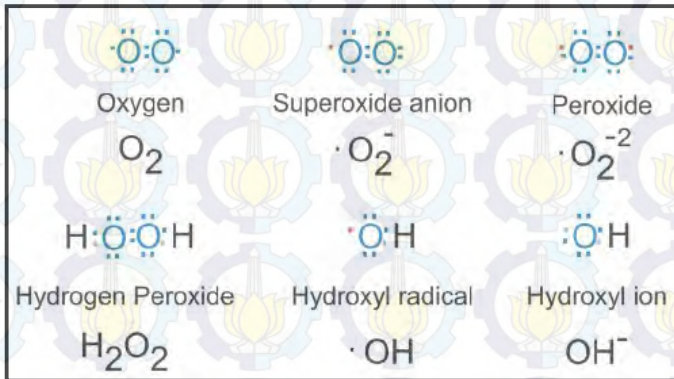
#### **2.1 Diabetes Melitus**

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan gejala hiperglikemik sebagai akibat gangguan sekresi insulin dan atau meningkatnya resistensi sel terhadap insulin (Soegondo, 2005). Insulin merupakan hormon yang berperan dalam metabolisme glukosa khususnya sebagai perantara masuknya glukosa dari dalam darah menuju sel-sel jaringan tubuh lainnya seperti otot dan jaringan lemak (Reinauer *et al.*, 2002). Kondisi hiperglikemik pada penderita diabetes merupakan suatu keadaan ketika kadar glukosa dalam darah mengalami peningkatan hingga melebihi batas normal (Corwin, 2001). Menurut Dawn dkk (2000), kadar glukosa darah dapat dikatakan normal ketika berada pada kisaran 80-120 mg/dL (saat kondisi puasa) atau pada kisaran 100-180 mg/dL (saat kondisi tidak puasa).

Terdapat 2 tipe diabetes, yaitu diabetes mellitus tipe I atau IDDM (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) terjadi karena rusaknya sel  $\beta$  pankreas yang mengakibatkan jumlah sekresi hormon insulin berkurang, sehingga tidak mampu mengambil glukosa dari sirkulasi darah dan tidak mampu mengontrol kadar glukosa dalam darah. Diabetes mellitus tipe II atau NIDDM (*Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) terjadi karena resistensi insulin, jumlah insulin cukup tetapi insulin tersebut tidak sensitif lagi sehingga tidak mampu bekerja secara optimal dan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel yang mengakibatkan penggunaan glukosa sebagai energi menjadi terhambat sehingga menyebabkan kekurangan energi pada sel (Soegondo, 2005).

## 2.2 Reactive Oxidative Species

*Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif (Halliwell and Whiteman, 2004). Senyawa oksigen reaktif ini dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh misalnya pada proses oksidasi glukosa menjadi energi. ROS yang paling penting secara biologis dan paling banyak berpengaruh pada sistem reproduksi antara lain *superoxide anion* ( $O_2^{\cdot-}$ ), *hydroxyl radicals* ( $OH^{\cdot}$ ), *peroxyl radicals* ( $RO_2^{\cdot}$ ) dan *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ) (Gambar 2.1) (Tremellen, 2008).



Gambar 2.1 Macam-macam ROS (Held, 2014).

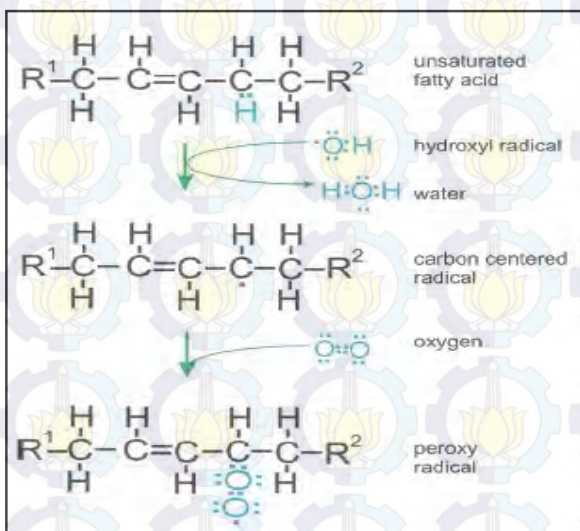
## 2.3 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah suatu keadaan ketidakseimbangan antara ROS dengan antioksidan, dimana jumlah produksi ROS lebih banyak bila dibandingkan dengan antioksidan (Halliwell, 2006). Stres oksidatif ditandai dengan meningkatnya kadar lipid peroksida disertai menurunnya aktivitas antioksidan. Lipid peroksida sebagai oksidan/ radikal bebas yang merupakan hasil dari proses peroksidasi lipid, akan beredar di seluruh tubuh melalui aliran darah dan akan merusak membran sel (Suparman, 2012).

Sering kali kerusakan ini disebut sebagai kerusakan oksidatif, yaitu kerusakan biomolekul penyusun sel yang disebabkan oleh reaksinya dengan ROS. Adanya peningkatan stres oksidatif berdampak negatif pada beberapa komponen penyusun membran sel, yaitu kerusakan pada lipid membran membentuk MDA, kerusakan protein, karbohidrat, dan DNA (Kevin *et al.*, dalam Suarsana dkk., 2013).

### 2.3.1 Lipid peroksida

Lipid peroksida merupakan proses yang bersifat kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan ROS, membentuk hidroperoksida (Robles *et al.*, dalam Setiawan dan Suhartono, 2007). Lipid peroksida adalah salah satu indikator yang paling banyak digunakan dari pembentukan ROS, indikator kunci dari stres oksidatif.



Gambar 2.2 Ilustrasi Pembentukan Lipid Peroksida (Held, 2014).



*Poly Unsaturated Fatty Acids* (PUFAs) pada membran sel adalah target umum untuk ROS (Retno dkk., 2012; Held, 2014). Reaksi biasanya terjadi sebagai reaksi berantai dimana ROS akan menangkap bagian hidrogen dari karbon tak jenuh untuk membentuk air. Hal ini membuat sebuah elektron tidak berpasangan pada asam lemak yang kemudian mampu menangkap oksigen, membentuk radikal peroksi (Gambar 2.2). Ikatan rangkap pada karbon melemahkan ikatan hidrogen yang memungkinkan untuk disosiasi hidrogen dengan mudah oleh radikal bebas. Sebuah radikal bebas akan mengambil elektron tunggal dari hidrogen yang terkait dengan karbon pada ikatan rangkap, kemudian elektron yang tidak berpasangan akan menjadi radikal bebas.

### 2.3.2 Malondialdehida

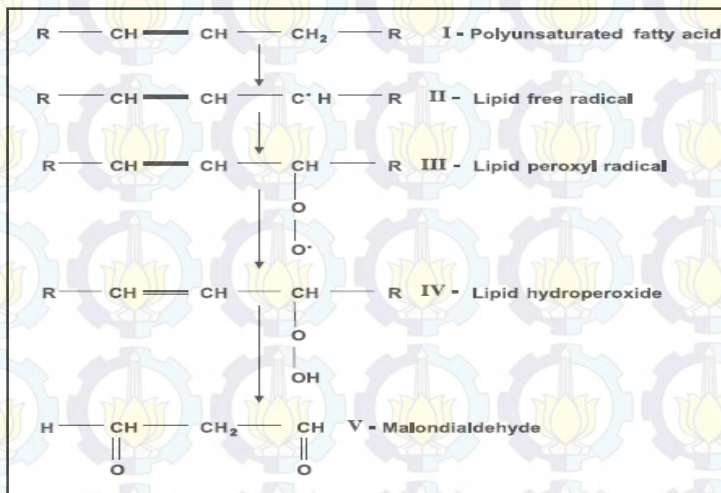
MDA merupakan salah satu marker yang umum digunakan untuk peroksidasi lipid, diantara aldehyd yang reaktif (Saxena and Lal, 2006). Salah satu konversi oksidatif dari *polyunsaturated fatty acid* menjadi produk yang disebut MDA atau lipid peroksida. Lipid peroksida tersebut ditemukan juga pada manusia sehat, yang mengindikasikan bahwa radikal bebas oksigen juga diproduksi dalam metabolisme tubuh normal (Pasupathi, 2009).

Menurut Prangdimurdi dalam Retno dkk (2012), MDA sebagai produk akhir dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid hasil dari radikal bebas ini akan selalu membentuk reaksi berantai yang terus berlanjut sampai radikal bebas ini dihilangkan oleh radikal bebas lain dan oleh sistem antioksidan dari tubuh. Malondialdehida umum digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif (Hendromartono, 2000).

Grotto *et al.*, (2009) menyatakan bahwa target radikal bebas adalah ikatan ganda karbon-karbon dari PUFA. Ikatan ganda ini akan melemahkan ikatan karbon hidrogen dan memudahkan



pemindahan hidrogen oleh radikal bebas, kemudian radikal bebas akan memisahkan atom hidrogen yang akan membentuk radikal lipid, yang akan mengalami penggabungan dengan oksigen ( $O_2$ ) menghasilkan radikal peroksil. Radikal peroksil mampu bereaksi dengan PUFA yang lainnya dengan memindahkan satu elektron yang menghasilkan lipid hidroperoksida, dimana lipid tersebut akan menghasilkan produk seperti MDA (Gambar 2.3).

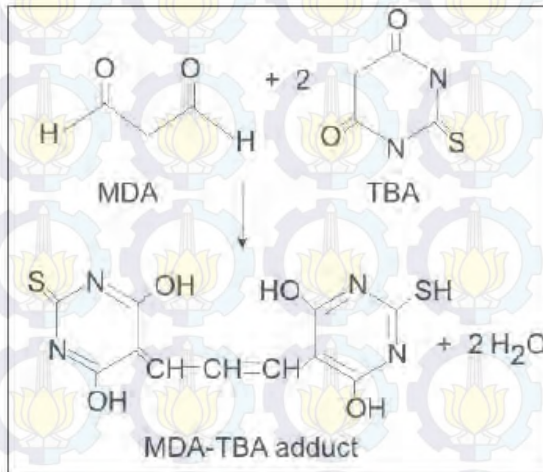


Gambar 2.3 Reaksi Pembentukan MDA dari Senyawa PUFA (Grotto *et al.*, 2009).

Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal sangat tidak stabil dan bersifat elektrofil dan reaksinya pun berlangsung cepat. Radikal bebas dan peroksidasi lipid merupakan produk dengan waktu paruh yang sangat singkat dan sulit diperiksa secara langsung. MDA bersifat lebih stabil dan merupakan produk degradasi peroksidasi lipid yang memiliki waktu hidup lebih lama, sehingga

dapat digunakan sebagai biomaker stres oksidatif yang terjadi (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Pengukuran MDA mudah dilakukan baik secara spektrofotometrik atau fluorimetrik (Mates *et al.*, 2000).



Gambar 2.4 Reaksi Malondialdehida dengan Asam Tiobarbiturat (Held, 2014).

Uji TBARs (Thio-Barbituric Acid Reactive substances), merupakan salah satu uji yang paling lama dan paling sering digunakan untuk mengukur proses peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh. Uji TBARs dapat menilai stress oksidatif berdasarkan reaksi asam tiobarbiturat dengan MDA (gambar 2.5). Supernatan sampel yang diujikan (setelah protein diendapkan) akan direaksikan dengan asam tiobarbiturat menghasilkan kromofor berwarna merah muda yang dibaca pada panjang gelombang 532nm (Jusman dkk., 1995).

### 2.3.3 Stress oksidatif pada diabetes

Keadaan hiperglikemik yang berlangsung dalam jangka waktu yang lama sering sekali dikaitkan dengan komplikasi pada penyakit diabetes. Hal ini dikarenakan pada kondisi hiperglikemik mampu meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang diduga berperan penting dalam terjadinya komplikasi pada penyakit diabetes (Davi *et al.*, 2005). Pitocco *et al.*, (2010) menyatakan bahwa produksi ROS dapat mengaktifkan sinyal insulin dan menyebabkan tindakan metabolik dari insulin. ROS dapat meningkatkan pengambilan glukosa oleh jaringan adiposa dan jaringan otot, selain itu juga dapat menstimulasi translokasi GLUT 4 (Afanas'ev, 2010; Pitocco *et al.*, 2010). Berkurangnya pengambilan glukosa pada jaringan otot dan jaringan adiposa dapat menyebabkan ekstraselular hiperglikemik kronik, yang menjadi penyebab kerusakan jaringan dan komplikasi patofisiologi (Niedowics dan David, 2005).

Pada diabetes melitus, pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler akan terangsang sebagai respons tantangan oksidatif (Nuttal *et al.*, dalam Setiawan dan Suhartono, 2005). Sumber stres oksidatif yang terjadi berasal dari peningkatan produksi ROS melalui mekanisme autooksidasi glukosa, glikasi non-enzimatik, aktivasi protein kinase C (PKC), aktivasi *hexosamine pathway*, rendahnya konsentrasi antioksidan di jaringan, serta gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik (Setiawan dan Suhartono, 2005; Tang *et al.*, 2012).



Menurut Tang *et al.*, (2012), salah satu mekanisme utama yang berperan dalam komplikasi diabetes melibatkan *polyol pathway*. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *polyol pathway* merupakan sumber penting dari stres oksidatif diabetes. Pada keadaan normoglikemia, glukosa seluler sebagian besar terfosforilasi menjadi glukosa 6-fosfat oleh heksokinase, dan memasuki jalur glikolisis. Hanya sedikit jumlah glukosa (sekitar 3%) yang masuk dalam proses *polyol pathway* (Morrison *et al* dalam Tang *et al.*, 2012). Namun, dalam kondisi hiperglikemik, terjadi peningkatan metabolisme glukosa melalui *polyol pathway*, yaitu sekitar lebih dari 30% dari metabolisme glukosa. Pada *polyol pathway* terjadi reduksi glukosa menjadi sorbitol yang dikatalisis oleh reduktase aldosa (AR). Pada proses ini digunakan nicotinamide adenosine dinukleotida fosfat (NADPH) secara berlebih sebagai donor elektron. Sorbitol selanjutnya akan

Menurut Tang *et al.*, (2012), salah satu mekanisme utama yang berperan dalam komplikasi diabetes melibatkan *polyol pathway*. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *polyol pathway* merupakan sumber penting dari stres oksidatif diabetes. Pada keadaan normoglikemia, glukosa seluler sebagian besar terfosforilasi menjadi glukosa 6-fosfat oleh heksokinase, dan memasuki jalur glikolisis. Hanya sedikit jumlah glukosa (sekitar 3%) yang masuk dalam proses *polyol pathway* (Morrison *et al* dalam Tang *et al.*, 2012). Namun, dalam kondisi hiperglikemik, terjadi peningkatan metabolisme glukosa melalui *polyol pathway*, yaitu sekitar lebih dari 30% dari metabolisme glukosa. Pada *polyol pathway* terjadi reduksi glukosa menjadi sorbitol yang dikatalisis oleh reduktase aldosa (AR). Pada proses ini digunakan nicotinamide adenosine dinukleotida fosfat (NADPH) secara berlebih sebagai donor elektron. Sorbitol selanjutnya akan

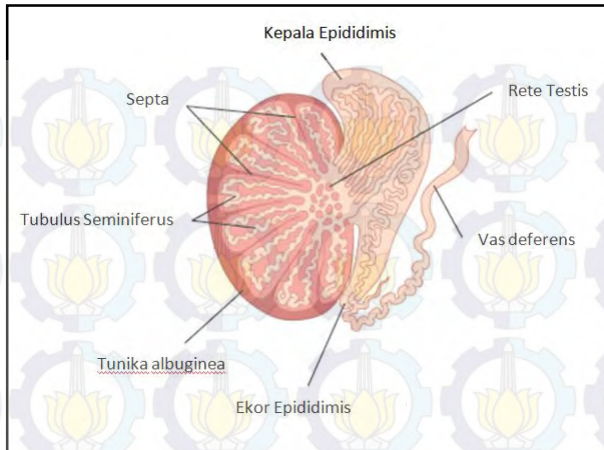
dikonversi menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase (SDH) dengan nicotinamide adenin dinukleotida ( $\text{NAD}^+$ ) sebagai kofaktor. Pada langkah ini, kofaktor  $\text{NAD}^+$  diubah menjadi NADH oleh SDH. NADH adalah substrat untuk NADH oksidase yang menyebabkan produksi anion superoksida. Selain itu, *polyol pathway* mengubah glukosa menjadi fruktosa, dan fruktosa akan dimetabolisme menjadi fruktosa-3-fosfat dan 3-deoxyglucosone, yang mana senyawa tersebut memiliki potensi sebagai agen penstimulus proses metabolisme glikasi non-enzimatik. Dengan demikian, fluks glukosa melalui *polyol pathway* dapat meningkatkan pembentukan AGEs, akhirnya menyebabkan generasi ROS (Tang *et al.*, 2012).

## **2.4 Anatomi dan Fisiologi Testis**

Testis merupakan salah satu organ yang penting pada reproduksi jantan. Testis berfungsi untuk memproduksi sperma serta hormon seperti testosteron dan androgen (Utiger 2013). Testis sebagai organ primer mempunyai dua fungsi yaitu menghasilkan spermatozoa atau sel-sel kelamin jantan, serta mensekresikan hormon testosteron (Toelihere, 1985; Utiger, 2013).

Testis merupakan sepasang struktur berbentuk oval dan sedikit gepeng (Manika dkk., 1991). Testis terletak dalam skrotum dan dikelilingi oleh jaringan ikat kolagen yang tebal, yaitu tunika albuginea. Tunika albuginea menebal pada permukaan posterior testis dan membentuk mediastinum testis, yaitu tempat penjururan yang membagi kelenjar menjadi 250 kompartemen piramid yang disebut lobulus testis. Dalam setiap lobus yang 3 sampai 10 tubulus, disebut tubulus seminiferus, yang menghasilkan sel-sel sperma (Manika dkk., 1991; Utiger, 2015). Setiap lobulus dipisahkan oleh septa jaringan ikat (Septula testis) berasal dari testis mediastinum (Anonim, 2015).





Gambar 2.6 Anatomi Testis (Barret *et al.*, 2010).

#### 2.4.1 Pengaruh diabetes melitus terhadap testis

Diabetes melitus juga mempengaruhi fungsi reproduksi pria seperti terganggunya proses spermatogenesis (Sudoyo dkk., 2007). Stres oksidatif yang terjadi pada diabetes melitus berkaitan erat dengan infertilitas karena memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap disfungsi sperma. Sebanyak 40,88% pasien pria diabetes yang mengalami infertilitas, memiliki sperma dengan kadar ROS yang tinggi (Ilyas dkk., 2011).

Pembentukan ROS sebenarnya terjadi selama proses metabolisme di dalam sel berlangsung, namun apabila terjadi peningkatan yang berlebihan, maka dapat berpengaruh negatif terhadap tubuh yaitu menurunnya sistem penetralan dan pembuangan radikal bebas. Beberapa ROS yang berperan dalam terjadinya gangguan pada sistem reproduksi adalah *superoxide* ( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), dan hydroxyl ( $OH$ ) (Fauzi, 2008).

Kadar ROS berlebih mampu mempengaruhi kualitas dan fungsi sperma. Spermatozoa mudah terserang oleh induksi stres oksidatif karena dalam membran plasmanya banyak terkandung

asam lemak tak jenuh rantai ganda. Stres oksidatif merusak integritas DNA di inti spermatozoa, akan menginduksi terjadinya apoptosis sel. Apoptosis adalah kematian sel terprogram dimana proses ini merupakan proses fisiologis yang ditentukan oleh perubahan morfologi dan biokimia sel. Proses ini diregulasi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik, dan dapat dirangsang oleh berbagai stimulus. Pada pria infertil ditemukan adanya peningkatan apoptosis sel, yang pada akhirnya menyebabkan menurunnya kuantitas spermatozoa yang dihasilkan, menurunnya motilitas sperma serta menyebabkan perubahan morfologi spermatozoa (Sudoyo dkk., 2007; Tremellen, 2008; Ilyas dkk., 2011).

## **2.5 Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas, seperti oksigen singlet, superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, dan peroksi nitrit. Antioksidan berperan dalam menstabilkan radikal bebas serta mencegah terjadinya kerusakan sel jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas (Hamid *et al.*, 2010).

Aktivitas antioksidan di dalam tubuh merupakan suatu kesatuan sistem yang saling terkait dan saling mempengaruhi, contohnya *Superoxide dismutase* (SOD), katalase dan *glutathion peroxylase* (GSH-Px). Kekurangan salah satu komponen ini dapat menyebabkan terjadinya penurunan status antioksidan secara menyeluruh dan mengakibatkan perlindungan terhadap serangan ROS menjadi lemah (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Rendahnya aktivitas antioksidan, atau penghambatan enzim antioksidan, menyebabkan stres oksidatif dan dapat merusak sel (Hamid *et al.*, 2010).

### **2.5.1 Klasifikasi antioksidan**

Menurut Winarsi (2007), berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu:

a. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat membersihkan atom hidrogen secara cepat pada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Antioksidan primer meliputi enzim SOD, katalase dan GSH-Px. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas, dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Enzim katalase dan GSH-Px bekerja dengan mengubah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ , sedangkan SOD bekerja dengan mengkatalisis reaksi dismutasi dari radikal anion superoksida menjadi  $H_2O_2$  (Winarsi, 2007).

b. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau antioksidan non-enzimatis. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya. Pengkelatan metal terjadi dalam cairan ekstraseluler. Kerja antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin. vitamin C dan karotenoid (Winarsi, 2007).

Selain itu, terdapat juga mineral antioksidan, yang mana mineral seperti selenium (Se), tembaga (Cu), besi (Fe), seng (Zn), serta mangan (Mn) merupakan kofaktor enzim antioksidan. Ketidakhadiran mineral-mineral tersebut dapat mempengaruhi metabolisme berbagai makromolekul seperti karbohidrat (Hamid *et al.*, 2010).



c. Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim *DNA-Repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *Single* dan *Double strand* baik gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007).

## 2.6 Ikan Gabus (*Channa striata*)

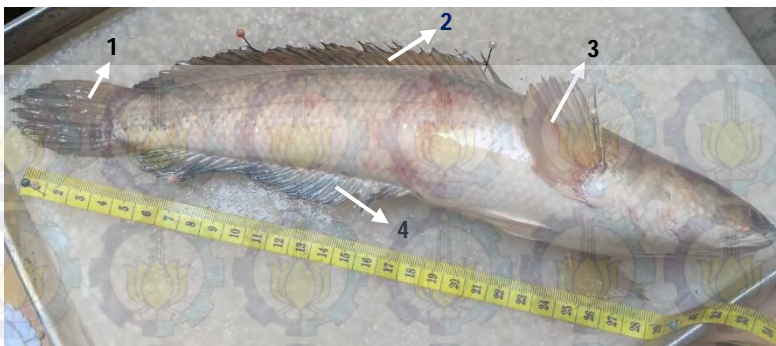
Klasifikasi ikan gabus (*Channa striata*) menurut Suprayitno dkk (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Actinopterygii
Order	: Perciformes
Family	: Channidae
Genus	: Channa
Species	: <i>Channa striata</i> (Bloch, 1793).

(Suprayitno dkk., 2008).

Ikan gabus atau dikenal secara lokal sebagai ikan kutuk adalah sejenis ikan karnivora yang hidup di air tawar (Ernawati, 2012). Di Indonesia, ikan gabus umumnya dapat ditemui di beberapa pulau, seperti Jawa, Sumatera, Sulawesi, Bali, Lombok, Singkep, Flores, Ambon, serta Maluku (Santoso, 2009).





Gambar 2.7 Morfologi *Channa striata* (Dokumentasi pribadi, 2015).

Keterangan: 1. Sirip Caudal; 2. Sirip Dorsal; 3. Sirip Pectoral; 4. Sirip Anal.

Ikan gabus adalah ikan air tawar yang memiliki bentuk tubuh *sub-cylindrical*, kepala *depressed*. Bagian permukaan dan samping punggung berwarna gelap dan bercorak kombinasi warna hitam dan kuning tua, putih pada bagian perut (Brotowidjoyo dkk., 1995). Ikan gabus memiliki bentuk sirip yang memanjang pada bagian dorsal dan anal, keseluruhan siripnya hanya didukung oleh *rays*, dan pada beberapa spesies tidak terdapat sirip pelvic (Berra dalam Courtenay and James, 2004). Ikan gabus memiliki bentuk sirip kaudal yang membulat (*rounded*), bentuk mulut tergolong terminal dengan rahang bawah yang menonjol, dan sering kali terdapat gigi yang menyerupai gigi taring. Bentuk sisiknya dapat *ctenoid* atau *cycloid* (Courtenay and James, 2004).

### 2.6.1 Kandungan nutrisi ikan gabus

Ikan gabus dikenal sebagai salah satu bahan pangan dengan sumber albumin yang potensial (Santoso, 2012). Albumin merupakan protein plasma yang paling tinggi jumlahnya sekitar 60% dan memiliki berbagai fungsi yang sangat penting bagi

kesehatan yaitu pembentukan jaringan sel baru, mempercepat pemulihan jaringan sel tubuh yang rusak (Nugroho, 2012). Albumin dapat berfungsi sebagai antioksidan. Albumin memiliki banyak gugus sulfhidril (-SH) yang berfungsi sebagai pengikat radikal bebas sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan ROS (Santoso, 2009).

Secara tradisional, ikan gabus banyak dikonsumsi sebagai makanan yang mengandung protein tinggi dan asam lemak omega-3. Ikan gabus banyak dikenal sebagai agen *therapeutic* yang berhubungan dengan kepercayaan masyarakat pada efektivitasnya dalam mengobati luka, menghilangkan rasa sakit, dan meningkatkan energi bagi yang sakit maupun orang-orang lanjut usia sebagai suplemen makanan (Shafri and Manan, 2012).

Ekstrak Ikan Gabus (EIG) merupakan cairan berwarna kuning yang dihasilkan dari pengukusan daging ikan gabus (*Channa striata*) segar. Ekstrak ikan gabus mengandung protein, lemak, glukosa dan beberapa mineral Zn, Cu, dan Fe seperti yang tercantum pada tabel 2.1 (Santoso, 2009).

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi Ekstrak Ikan Gabus

Nutrisi	Kadar dalam 100 ml
Protein (g)	$3,36 \pm 0,29$
Lemak Total (g)	$0,77 \pm 0,66$
Glukosa (g)	$0,07 \pm 0,02$
Zn (mg)	$3,34 \pm 0,8$
Cu (mg)	$2,34 \pm 0,98$
Fe (mg)	$0,02 \pm 0,09$

(Santoso, 2009).

Menurut Yuniarti dkk., (2013), ikan gabus mempunyai kandungan protein total yang cukup tinggi yaitu sebesar 25,2%. Ikan gabus juga mengandung albumin yang tidak dimiliki oleh ikan lainnya seperti ikan lele, ikan gurami, ikan nila, ikan mas dan sebagainya (Muhammad and Muhammad, 2012; Santoso dkk., 2012; Suprayitno dalam Yuniarti dkk., 2013).

Ansar (2010) menyatakan bahwa dalam 100 gram ikan gabus terkandung energi 74 kkal, lemak 1,7 gr, kalsium 62 mg, phosphor 176 mg, besi 0,9 mg. Albumin dalam ikan gabus mempunyai jenis asam amino yang bervariasi, seperti di dalam tabel 2.2 berikut:

**Tabel 2.2 Komposisi Asam Amino Albumin Ikan Gabus**

<b>No</b>	<b>Jenis Asam Amino</b>	<b>Albumin Ikan Gabus (%)</b>
<b>1</b>	Fenialanin	7,5
<b>2</b>	Isoleusin	8,34
<b>3</b>	Leusin	14,98
<b>4</b>	Metionin	0,81
<b>5</b>	Valin	8,66
<b>6</b>	Treonin	8,34
<b>7</b>	Lisin	17,02
<b>8</b>	Histidin	4,16
<b>9</b>	Asam Aspartat	17,02
<b>10</b>	Asam Glutamate	30,93
<b>11</b>	Alanin	10,07
<b>12</b>	Prolin	5,19
<b>13</b>	Serin	11,02
<b>14</b>	Glisin	6,99
<b>15</b>	Sistein	0,16
<b>16</b>	Tirosin	7,49

(Suprayitno, 2003).



## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2015 sampai Desember 2015 di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

### **3.2 Metode yang Digunakan**

#### **3.2.1 Pemeliharaan hewan uji (*Rattus norvegicus*)**

Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang digunakan pada percobaan ini sebanyak 25 ekor, yang berumur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan berkisar 200-250 gram. Tikus diaklimasi terlebih dahulu selama 2 minggu. Serutan kayu diberikan sebagai alas kandang dan dilakukan penggantian secara berkala. Pemberian pakan dan minum hewan uji dilakukan secara *ad libitum*.

#### **3.2.2 Perlakuan tikus hiperglikemik**

##### **3.2.2.1 Pembuatan larutan *alloxan monohydrate***

Tikus ditimbang terlebih dahulu menggunakan neraca untuk mengetahui berat badan tikus tersebut sehingga memudahkan dalam penentuan banyaknya *alloxan monohydrate* yang akan diinduksikan. Penginduksian *alloxan monohydrate* dilakukan secara intraperitoneal. Penggunaan dosis *alloxan monohydrate* mengacu pada Oluwole *et al.*, dalam Oghenesuvwe *et al.*, (2014) ialah 150 mg/kg berat badan tikus, dengan menggunakan pelarut NaCl 0,9% (Hardiyani, 2013). Pembuatan stok larutan *alloxan monohydrate* dilakukan berdasarkan Oghenesuvwe *et al* (2014), yakni 1200 mg *alloxan monohydrate* (Sigma-Aldrich) dilarutkan dalam NaCl 0,9% sebanyak 16 ml. Selanjutnya larutan disimpan pada suhu 4°C.



### **3.2.2.2 Induksi tikus hiperglikemik dengan *alloxan monohydrate***

Penginduksian *alloxan monohydrate* dilakukan pada hari ke-15, yakni setelah dilakukan pengecekan kadar glukosa darah awal. Penginduksian dilakukan pada tikus kelompok Kontrol Positif (KP), Dosis Bawah (DB), Dosis Tengah (DT), serta Dosis Atas (DA). Sedangkan untuk tikus pada kelompok Kontrol Negatif (KN) hanya diinjeksi dengan aquades atau buffer sitrat pro-injeksi saja.

Masing-masing tikus diinduksi *alloxan monohydrate* sebanyak 0,4 ml (Oghenesuvwe *et al.*, 2014), dengan menggunakan *syringe* berukuran 1 ml. Penginduksian *alloxan monohydrate* dilakukan secara intraperitoneal. Pertama-tama, bagian ventral tubuh tikus diusap terlebih dahulu dengan kapas yang sudah dibasahi dengan alkohol 70%. Kemudian *syringe* yang sudah berisi larutan *alloxan monohydrate* diinjeksikan pada daerah tersebut. Pengecekan kadar glukosa darah dilakukan pada 48 jam-72 jam pasca penginjeksian. Tikus dengan kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL (hiperglikemia) (Lenzen, 2008), akan digunakan untuk pengujian pemberian terapi ekstrak ikan gabus.

### **3.2.3 Pengukuran kadar glukosa darah**

Pengukuran kadar glukosa darah tikus dilakukan menggunakan glukometer *Accu-Check® Active*. Kadar glukosa darah tikus diukur sebanyak 3 kali yaitu sebelum dilakukan penginduksian (hari ke-15) dan setelah penginduksian *alloxan monohydrate* (hari ke-18), dan setelah pemberian terapi ekstrak ikan gabus (hari ke-31). Pengukuran glukosa darah tikus dilakukan setelah tikus dipuasakan selama 12-18 jam (Butler, 1995). Pengambilan darah dilakukan melalui bagian ekor tikus. Ekor tikus dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya, digunting ujung ekor tikus hingga darah keluar dari ujung ekor tersebut. Darah yang keluar kemudian ditetaskan sebanyak 1 tetes pada strip glukosa yang telah dimasukkan ke

dalam glukometer dan ditunggu hingga nilai kadar glukosa darah (mg/dL) tertera pada layar glukometer.

#### **3.2.4 Terapi tikus hiperglikemik**

Tikus kelompok Dosis Bawah (DB), Dosis Tengah (DT), dan Dosis Atas (DA) yang telah memiliki kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL (Lenzen, 2008), siap diterapi menggunakan ekstrak ikan gabus secara oral pada hari ke-15.

- Kelompok DB: tikus hiperglikemik yang diberi suplemen ekstrak ikan gabus dengan dosis 1,0 ml/hari.
- Kelompok DT: tikus hiperglikemik yang diberi suplemen ekstrak ikan gabus dengan dosis 1,6 ml/hari.
- Kelompok DA: tikus hiperglikemik yang diberi suplemen ekstrak ikan gabus dengan dosis 2,1 ml/hari.

Terapi dengan pemberian suplemen ekstrak ikan gabus ini dilakukan setiap hari selama 14 hari yaitu sampai hari ke-31. Dosis yang digunakan mengacu pada penelitian yang dilakukan Abdulgani dkk (2014), akan tetapi dikonversi ke dalam dosis berupa hewan coba tikus (Lampiran 1).

#### **3.2.5 Pengambilan organ testis tikus**

Pembedahan dilakukan pada kelima kelompok perlakuan pada hari ke-31. Sebelum dibedah, tikus dibius terlebih dahulu menggunakan klorofom. Pembedahan dilakukan pada bagian abdomen. Organ testis dipisahkan dari tubuh dengan cara dipotong. Selanjutnya testis dibilas dengan larutan NaCl-fisiologis 0,9% dingin. Organ lalu disimpan dalam larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4 untuk selanjutnya dilakukan analisis Malondialdehida (MDA).

#### **3.2.6 Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode TBARS**

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara mengukur kadar malondialdehida (MDA) menggunakan metode uji *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) (Sholichah

dkk., 2012). Organ testis sebanyak 0,5 gram diambil dan dimasukkan ke dalam alat pencacah organ (*tissue grinder*). Selanjutnya ditambah 4,5 ml larutan PBS dingin dan organ dicacah hingga halus. Setelah organ tersebut dihaluskan, diambil homogenat dan dimasukkan kedalam tabung sentrifuse. Homogenat disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil sebanyak 4 ml, kemudian ditambahkan sebanyak 1 ml larutan *Trichloroacetic Acid* (TCA) 15% serta larutan *Thiobarbituric Acid* (TBA) 0,37% dalam HCl 0,25 N sebanyak 1 ml, dan untuk selanjutnya dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 80°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruangan selama 60 menit. Selanjutnya larutan disentrifuse pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Pengukuran absorbansi supernatan MDA sampel dilakukan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. Setelah didapatkan nilai absorbansi, selanjutnya dihitung kadar MDA dengan menggunakan persamaan garis regresi dari kurva standar baku larutan MDA (Hermiyanti, dkk., 2015).

### 3.3 Analisis Data

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan hewan coba yang dikelompokkan menjadi lima perlakuan dengan tiga kali pengulangan. Analisis kadar MDA menggunakan uji ANOVA dengan hipotesa sebagai berikut:

$H_0$  : Pemberian terapi ekstrak ikan gabus tidak berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada organ testis tikus hiperglikemik.

$H_1$  : Pemberian terapi ekstrak ikan gabus berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada organ testis tikus hiperglikemik.

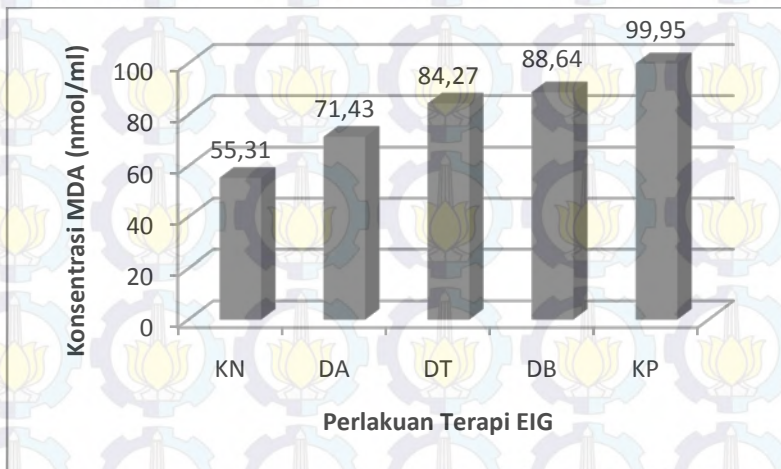
Jika  $H_1$  diterima maka dilakukan uji Tukey dengan selang kepercayaan 95% untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan kadar MDA antar perlakuan.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil pengukuran konsentrasi malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) merupakan senyawa hasil peroksidasi lipid yang umumnya digunakan sebagai indikator terjadinya stres oksidatif (Hendromartono *dalam* Sutari dkk., 2013). Pada penelitian ini dilakukan pengukuran konsentrasi MDA organ testis tikus jantan pada setiap kelompok perlakuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian terapi ekstrak ikan gabus (EIG) terhadap konsentrasi MDA testis tikus. Hasil pengukuran konsentrasi rata-rata MDA organ testis tikus setelah 31 hari perlakuan ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Konsentrasi Malondialdehida (MDA) pada Organ Testis Tikus.

Keterangan:

KN: Kontrol Negatif (Tikus tidak hiperglikemik); KP: Kontrol Positif (Tikus hiperglikemik, tidak diberi terapi); DB: Tikus hiperglikemik terapi EIG Dosis Bawah; DT: Tikus hiperglikemik terapi EIG Dosis Tengah; DA: Tikus hiperglikemik terapi EIG Dosis Atas.



Hasil analisa ANOVA *one way* menunjukkan bahwa pemberian terapi EIG berpengaruh terhadap konsentrasi MDA pada organ testis, dengan p-value atau Sig. 0,000 ( $p < 0,05$ ) (Lampiran 6). Berdasarkan grafik konsentrasi MDA (Gambar 4.1) ditunjukkan bahwa terdapat variasi nilai konsentrasi MDA, dengan nilai rata-rata konsentrasi MDA yang semakin menurun setelah pemberian terapi EIG.

Tabel 4.1 Pengaruh Pemberian Terapi EIG Terhadap Konsentrasi MDA Testis Tikus

No	Perlakuan	Rata-rata konsentrasi MDA (nmol/ml)
1	Perlakuan KN	55,31 <sup>a</sup>
2	Perlakuan DA	71,43 <sup>ab</sup>
3	Perlakuan DT	84,27 <sup>bc</sup>
4	Perlakuan DB	88,64 <sup>c</sup>
5	Perlakuan KP	99,95 <sup>c</sup>

Keterangan: Nilai rata-rata diperoleh dari 5 ulangan yang diikuti dengan diikuti dengan notifikasi huruf yang berbeda menunjukkan beda signifikan ( $p < 0,05$ ) pada uji Tukey.

KN: Kontrol Negatif (Tikus tidak hiperglikemik);

KP: Kontrol Positif (Tikus hiperglikemik, tidak diberi terapi);

DB: Tikus hiperglikemik terapi EIG Dosis Bawah (1 ml/hari);

DT: Tikus hiperglikemik terapi EIG Dosis Tengah (1,6 ml/hari);

DA: Tikus hiperlikemik terapi EIG Dosis Atas (2,1 ml/hari).

Setelah dilakukan uji *Tukey* (tabel 4.1), dapat diketahui bahwa pada kelompok perlakuan kontrol negatif (KN) atau tikus non-hiperglikemik memiliki nilai rata-rata konsentrasi MDA (55,31 nmol/ml) yang lebih rendah secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dari pada kelompok perlakuan kontrol positif (KP) atau tikus hiperglikemik tanpa terapi EIG (99,95 nmol/ml). Konsentrasi MDA pada kelompok perlakuan KP (tikus hiperglikemik) yang lebih tinggi dibandingkan tikus kelompok perlakuan KN (non-hiperglikemik) mengindikasikan bahwa tikus KP mengalami stres oksidatif. Hal ini dapat terjadi karena pada kelompok KP

diinduksi dengan aloksan. Aloksan dapat menyebabkan gangguan sekresi insulin pada sel beta pankreas (Jyoti and Kar, 2014; Radenkovic *et al.*, 2015; Rohilla and Shahjad, 2012; Szudelski, 2001) serta gangguan histopatologi pankreas sebagaimana yang telah dibuktikan pada penelitian pendahuluan oleh Abdulgani *et al* (2014). Hal ini didukung juga oleh pernyataan Radenkovic *et al* (2015), yang menyatakan bahwa aloksan bersifat hidrofilik sehingga tidak dapat masuk melalui membran sel. Namun aloksan dapat masuk ke dalam sel beta pankreas melalui protein saluran glukosa (GLUT 2) karena aloksan memiliki struktur seperti glukosa. Masuknya aloksan ke dalam sel beta pankreas menyebabkan inaktivasi enzim glukokinase untuk menstimulus sekresi insulin. Hal ini dapat menjelaskan mengapa tikus yang diinduksi aloksan dalam penelitian ini mengalami hiperglikemik.

Kondisi hiperglikemik memicu peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui mekanisme antara lain glikasi non-enzimatis, aktivasi *hexosamine pathway*, dan *polyol pathway* (Setiawan dan Suhartono, 2005; Amaral *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2012). ROS dapat berikatan dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) pada membran plasma dan menghasilkan MDA (Groto *et al.*, 2009) yang berlanjut dengan kerusakan sel (Kumar *et al.*, 2005). Sel-sel pada organ testis, terutama sel spermatozoa, merupakan target utama dari kerusakan yang disebabkan oleh ROS karena sebagian besar sel tersusun atas PUFA (Amaral *et al* 2008). Berdasarkan referensi tersebut, dapat dijelaskan mengapa konsentrasi MDA pada organ testis tikus KP atau tikus hiperglikemik yang tidak diterapi dengan EIG menunjukkan nilai konsentrasi MDA tertinggi. Hal ini juga dikuatkan dengan penelitian pendahuluan oleh Abdulgani dkk (2014) yang menemukan bahwa tikus hiperglikemik yang tidak diterapi EIG menunjukkan gejala histopatologi testis tertinggi dan jumlah sel-sel spermatogenesis terendah. Menurut Helliwell dan Gutteridge (1999), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi MDA semakin tinggi pula tingkat kerusakan sel yang disebabkan oleh stres oksidatif.

Sedangkan pada kelompok perlakuan KN memiliki konsentrasi MDA yang lebih rendah dari pada kelompok perlakuan KP. Hal ini dikarenakan tikus pada perlakuan KN tidak diinduksi dengan aloksan sehingga tidak mengalami kondisi hiperglikemik yang menyebabkan produksi ROS berlebih. Walaupun dalam keadaan normal atau sehat MDA pada tikus KN tetap terbentuk, akan tetapi dalam konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi MDA pada keadaan hiperglikemik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pasupathi (2009), yang menyatakan MDA yang merupakan hasil dari lipid peroksida ditemukan juga pada keadaan tubuh normal atau sehat, yang mengindikasikan bahwa radikal bebas oksigen juga diproduksi dalam metabolisme di mitokondria pada sel tubuh yang normal. Produksi ROS di organ testis, terutama di sel spermatozoa merupakan proses fisiologis normal yang berperan dalam proses fisiologi sperma seperti pematangan sperma. Akan tetapi, produksi ROS yang berlebihan menyebabkan terganggunya fungsi sperma hingga menyebabkan kerusakan sel sperma (Koksal *et al.*, 2003; Shayakhmetova *et al.*, 2012).

Berdasarkan gambar 4.1 dan hasil uji *Tukey* pada tabel 4.1 ditunjukkan bahwa konsentrasi MDA testis kelompok pemberian terapi EIG dosis atas (DA: 71,43 nmol/ml), lebih rendah secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok KP dan tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) dengan konsentrasi MDA kelompok KN atau non-hiperglikemik. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian terapi EIG secara oral pada tikus hiperglikemik dapat menurunkan stres oksidatif hingga kondisinya hampir sama dengan tikus yang sehat. Penurunan konsentrasi MDA organ testis tikus ini dimungkinkan karena terjadinya peningkatan aktivitas antioksidan dalam organ testis setelah diberikan terapi EIG. Menurut Helliwell dan Gutteridge (1999), status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Sunarno (2015), yang menyatakan bahwa ikan gabus mengandung beberapa asam amino seperti glutamin, glisin, serta sistein yang berperan sebagai

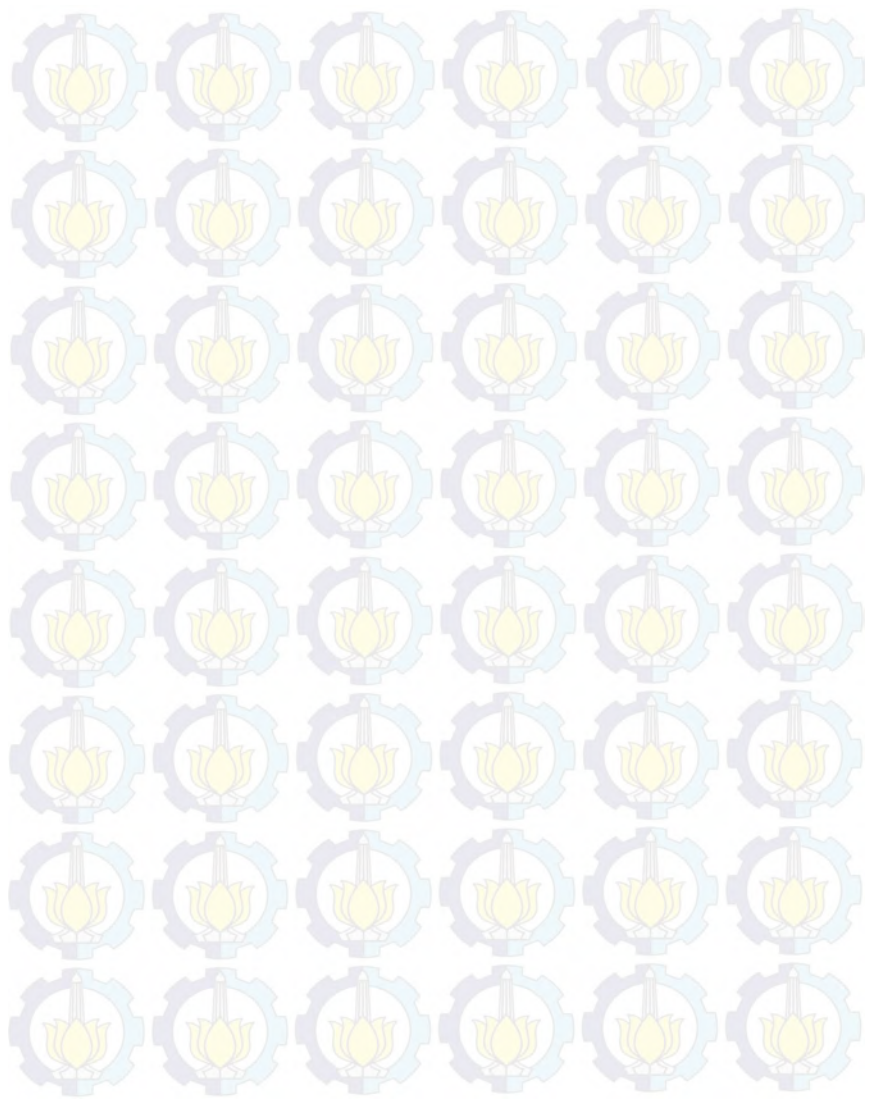


prekursor antioksidan. Ketiga asam amino tersebut merupakan asam amino yang berperan sebagai prekursor dalam pembentukan *glutathione* (GSH) yang merupakan salah satu antioksidan dalam tubuh. GSH merupakan salah satu antioksidan yang terdapat dalam testis selain *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx) (Aitken and Shaun, 2008; Amaral *et al.*, 2008; Ricci *et al.*, 2009; Al-Damegh, 2012; Gobbo *et al.*, 2015). GSH pada testis berperan dalam melindungi membran plasma pada sel-sel jaringan testis dari terjadinya stres oksidatif (Aitken and Shaun, 2008; Amaral *et al.*, 2008; Kheradmand *et al.*, 2009). GSH mampu menetralkan ROS yang dihasilkan pada kondisi hiperglikemik dengan cara mereduksi senyawa ROS tersebut dan mengubahnya menjadi senyawa yang tidak berbahaya lagi bagi komponen sel (Berg *et al.*, 2012). Sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat korelasi antara tingkat ketersediaan dari ketiga jenis asam amino tersebut dalam meningkatkan antioksidan GSH yang berperan dalam proses perbaikan sel-sel jaringan yang rusak akibat stres oksidatif (Sunarno, 2015). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa semakin tinggi kadar EIG maka semakin tinggi bahan untuk pembentukan antioksidan GSH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dosis atas (2,1 ml/hari) merupakan dosis yang efektif untuk menurunkan dampak turunan dari hiperglikemik di organ testis. Sedangkan pada perlakuan terapi dosis bawah (1 ml/hari) dan tengah (1,6 ml/hari) belum menunjukkan dampak yang signifikan. Hal ini didasarkan pada uji tukey yang menunjukkan bahwa konsentrasi MDA pada perlakuan DB (88,64 nmol/ml) dan DT (84,27nmol) tidak berbeda secara signifikan ( $p>0,05$ ) dengan kelompok perlakuan KP (99,95 nmol/ml).

Berdasarkan hasil tersebut, maka secara umum dapat dinyatakan bahwa semakin tinggi dosis terapi EIG yang diberikan, semakin tinggi pula aktivitas antioksidan dalam mencegah stres oksidatif pada organ testis, sehingga MDA yang terbentuk pun juga akan semakin rendah.



**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

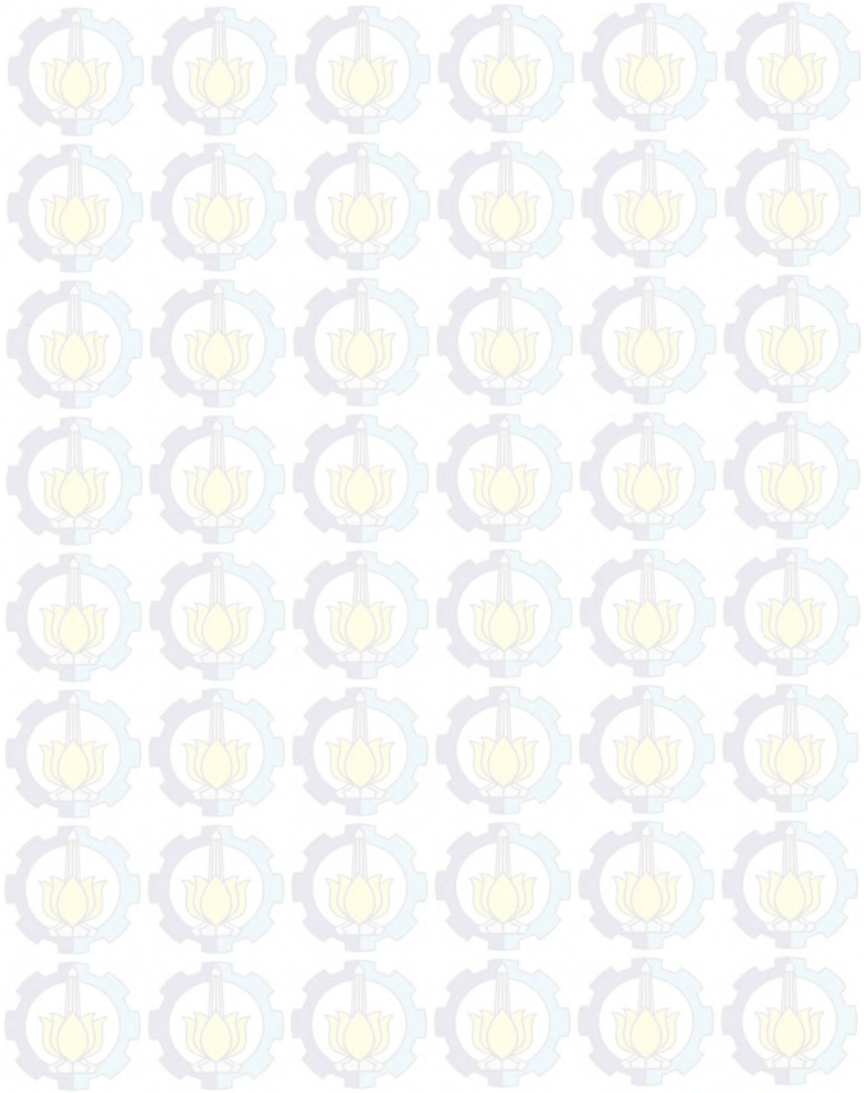
#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi ekstrak ikan gabus (EIG) berpengaruh terhadap konsentrasi malondialdehida (MDA) pada organ tikus hiperglikemik dengan pemberian terapi EIG dosis atas (DA: 2,1 ml/hari) yang merupakan dosis paling efektif dalam meningkatkan aktivitas antioksidan (menurunkan konsentrasi MDA) pada organ testis tikus hiperglikemik.

#### **5.2 Saran**

Penelitian selanjutnya mengenai pemberian terapi ekstrak ikan gabus pada penderita hiperglikemik diharapkan melakukan beberapa pengujian parameter lain untuk melengkapi data. Uji yang dapat dilakukan antara lain: uji aktivitas *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), *glutathione* (GSH), serta uji kapasitas antioksidan pada ekstrak ikan gabus.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## LAMPIRAN

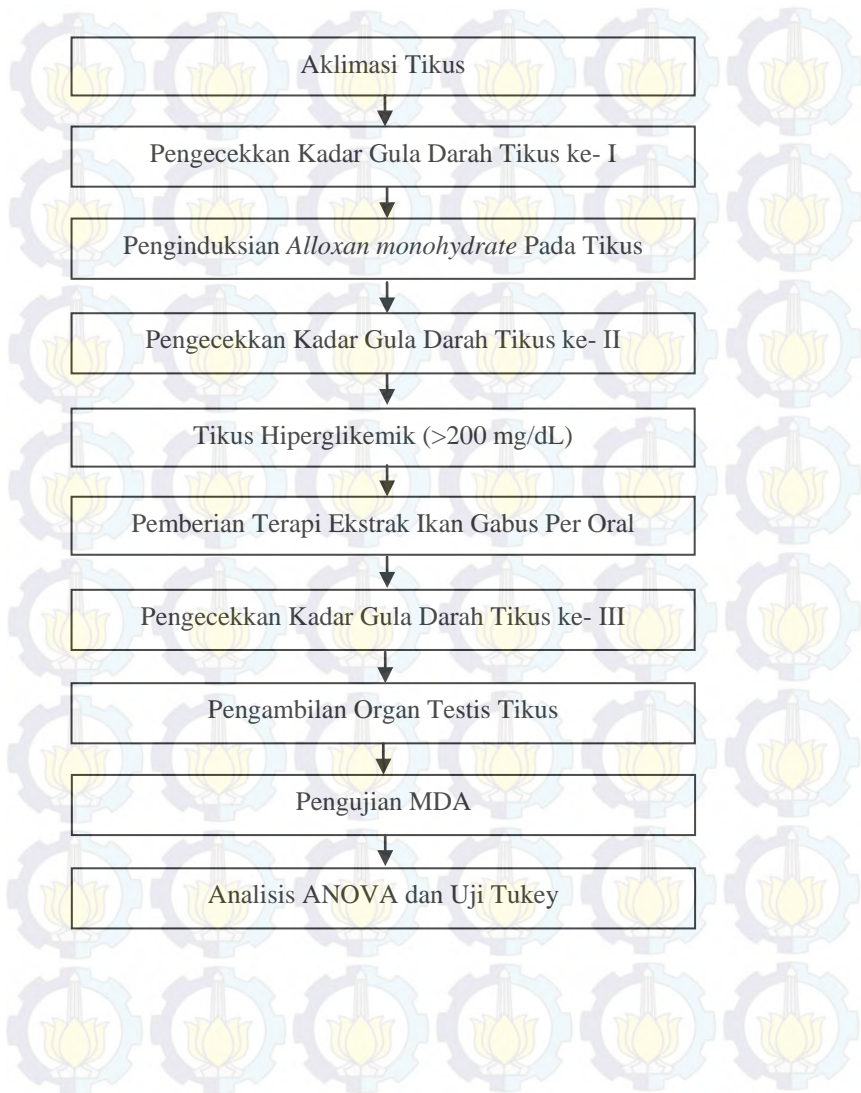
**Lampiran 1. Konversi Perhitungan Dosis**

	Mencit (20 g)	Tikus (200 g)	Marmut (400 g)	Kelinci (1,5 kg)	Kucing (2 kg)	Kera (4 kg)	Anjing (12 kg)	Manusia (70 kg)
Mencit (20 g)	1	7	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus (200 g)	0,14	1	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56
Marmut (400 g)	0,08	0,57	1	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci (1,5 kg)	0,04	0,25	0,44	1	1,08	2	4,5	14,2
Kucing (2 kg)	0,03	0,23	0,41	0,92	1	2,2	4,1	13
Kera (4 kg)	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1	1,9	6,1
Anjing (12 kg)	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1	3,1
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1

(Laurence dan Bacharach, 1964).



## Lampiran 2. Skema Kerja



### Lampiran 3. Perhitungan Dosis *Alloxan monohydrate*

Dosis *Alloxan monohydrate* yang digunakan: 150 mg/kg BB

$$\text{Dosis yang diinjeksikan} = \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000 \text{ g}} \times \text{dosis standar}$$

$$= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 150 \text{ mg} = 30 \text{ mg}$$

(Oghenesuvwe dkk, 2014).

$$\text{Volume yang diinjeksikan} = \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000 \text{ g}} \times 2 \text{ ml/kg}$$

$$= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 2 \text{ ml/kg} = 0,4 \text{ ml}$$

(Oghenesuvwe dkk, 2014).

$$\text{Larutan Stok } \textit{Alloxan monohydrate} = \frac{\text{volume injeksi}}{\text{dosis injeksi}} \times 1200 \text{ mg}$$

$$= \frac{0,4 \text{ ml}}{30 \text{ mg}} \times 1200 \text{ mg} = 16 \text{ ml}$$

(Oghenesuvwe dkk, 2014).

#### Lampiran 4. Perhitungan Dosis Terapi Ekstrak Ikan Gabus (EIG)

Dosis Terapi EIG penelitian pendahuluan dengan hewan coba mencit: 0,14846 ml/hari.

Terapi DB untuk tikus 200 g = bil. konversi x 0,14846 ml/hari

$$= 7 \times 0,14846 \text{ ml/hari}$$

$$= 1,03922 \text{ ml/hari}$$

Terapi DT untuk tikus 200 g = DB x 1,5

$$= 1,03922 \text{ ml/hari} \times 1,5$$

$$= 1,55883 \text{ ml/hari}$$

Terapi DA untuk tikus 200 g = DB x 2

$$= 1,03922 \text{ ml/hari} \times 2$$

$$= 2,07844 \text{ ml/hari}$$

### Lampiran 5. Data Nilai Konsentrasi MDA

Konsentrasi MDA (nmol/ml) Ulangan ke-	Perlakuan				
	KN	KP	DB	DT	DA
1	52,254	105,77	86,095	75,706	66,262
2	58,392	123,084	79,641	74,919	73,66
3	59,179	89,4	85,78	93,493	75,549
4	55,402	89,085	101,835	92,706	76,493
5	51,309	92,391	89,872	84,521	65,161



### Lampiran 6. Hasil Uji ANOVA *One-Way* Konsentrasi MDA

Descriptives						
Konsentrasi MDA						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	5	55,3072	3,52929	1,57834	50,9250	59,6894
kontrol positif	5	99,9460	14,62484	6,54043	81,7869	118,1051
Dosis bawah	5	88,6446	8,23505	3,68283	78,4194	98,8698
Dosis tengah	5	84,2690	8,90332	3,98168	73,2141	95,3239
Dosis atas	5	71,4250	5,32873	2,38308	64,8085	78,0415
Total	25	79,9184	17,65105	3,53021	72,6324	87,2044

Descriptives		
Konsentrasi MDA		
	Minimum	Maximum
Kontrol negatif	51,31	59,18
kontrol positif	89,09	123,08
Dosis bawah	79,64	101,84
Dosis tengah	74,92	93,49
Dosis atas	65,16	76,49
Total	51,31	123,08

## ANOVA

**Konsentrasi MDA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5870,140	4	1467,535	18,261	,000
Within Groups	1607,289	20	80,364		
Total	7477,429	24			

### Lampiran 7. Hasil Uji Tukey Konsentrasi MDA

#### Multiple Comparisons

#### Konsentrasi MDA Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kontrol negatif	kontrol positif	-44,63880*	5,66972	,000
	Dosis bawah	-33,33740*	5,66972	,000
	Dosis tengah	-28,96180*	5,66972	,000
	Dosis atas	-16,11780	5,66972	,068
kontrol positif	Kontrol negatif	44,63880*	5,66972	,000
	Dosis bawah	11,30140	5,66972	,305
	Dosis tengah	15,67700	5,66972	,079
	Dosis atas	28,52100*	5,66972	,001
Dosis bawah	Kontrol negatif	33,33740*	5,66972	,000
	kontrol positif	-11,30140	5,66972	,305
	Dosis tengah	4,37560	5,66972	,936
	Dosis atas	17,21960*	5,66972	,046
Dosis tengah	Kontrol negatif	28,96180*	5,66972	,000
	kontrol positif	-15,67700	5,66972	,079
	Dosis bawah	-4,37560	5,66972	,936
	Dosis atas	12,84400	5,66972	,197
Dosis atas	Kontrol negatif	16,11780	5,66972	,068
	kontrol positif	-28,52100*	5,66972	,001
	Dosis bawah	-17,21960*	5,66972	,046
	Dosis tengah	-12,84400	5,66972	,197

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



### Multiple Comparisons

Konsentrasi MDA

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	kontrol positif	-61,6047	-27,6729
	Dosis bawah	-50,3033	-16,3715
	Dosis tengah	-45,9277	-11,9959
	Dosis atas	-33,0837	,8481
kontrol positif	Kontrol negatif	27,6729	61,6047
	Dosis bawah	-5,6645	28,2673
	Dosis tengah	-1,2889	32,6429
	Dosis atas	11,5551	45,4869
Dosis bawah	Kontrol negatif	16,3715	50,3033
	kontrol positif	-28,2673	5,6645
	Dosis tengah	-12,5903	21,3415
	Dosis atas	,2537	34,1855
Dosis tengah	Kontrol negatif	11,9959	45,9277
	kontrol positif	-32,6429	1,2889
	Dosis bawah	-21,3415	12,5903
	Dosis atas	-4,1219	29,8099
Dosis atas	Kontrol negatif	-,8481	33,0837
	kontrol positif	-45,4869	-11,5551
	Dosis bawah	-34,1855	-,2537
	Dosis tengah	-29,8099	4,1219

## Homogeneous Subsets

Konsentrasi MDA				
Tukey HSD <sup>a</sup>				
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol negatif	5	55,3072		
Dosis atas	5	71,4250	71,4250	
Dosis tengah	5		84,2690	84,2690
Dosis bawah	5			88,6446
kontrol positif	5			99,9460
Sig.		,068	,197	,079

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

## DAFTAR PUSTAKA

Abdulgani, N dan Maharani, L. 2014. Potensi Regenerasi Sel Leydig dan Sel Spermatogenik pada Testis Mencit Mencit (*Mus musculus*) Hiperglikemik yang Diinduksi dengan Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*). **Tugas Akhir**. Surabaya: ITS.

Abdulgani, N., Trisnawati, I., Aunurohim, Hidayati, D., Aisyatussoffi, N., & Arifiyanto, A. 2014. Snakehead (*Channa striata*) Extracts Treatment towards Hyperglycemic Mice (*Mus musculus*) Blood Glucose Levels and Pancreatic Histology Structure. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences** 4(5): 1-6.

Afanas'ev, I. 2010. Review: Signaling and Damaging Functions of Free Radicals in Aging-Free Radical Theory, Hormesis, and TOR. **Aging and Disease** 1(2): 75-88.

Aitken, R. J. and Roman, S. D. 2008. Antioxidant System and Oxidative Stress in The Testes. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity** 1(1): 15-24.

Al-Damegh, M. A. 2012. Rat Testicular Impairment Induced by Electromagnetic Radiation From a Conventional Cellular Telephone and The Protective Effects of The Antioxidant Vitamins A and E. **Clinics** 67(7): 785-792.

Amaral, S., Moreno, A. J., Santos, M. S., Seica, R., and Santos, J. R. 2006. Effects of Hyperglycemia on Sperm and Testicular Cells of Goto-Kakizaki and Streptozotocin-Treated Rat Models for Diabetes. **Theriogenology** 66: 2056-2067.

Amaral, S., Oliveira, P. J., and Ramalho, J. 2008. Diabetes and the Impairment of Reproductive Function: Possible Role of Mitochondria and Reactive Oxygen Species. **Current Diabetes Reviews** 4(1): 46-54.



Anonim. 2015. **Testis, Epididymis and Spermatic Cord: Gross Anatomy**. <http://www.urology-textbook.com/testis-anatomy.html> [07 Oktober 2015].

Ansar, 2010. **Pengolahan dan Pemanfaatan Ikan Gabus**. Jakarta: Kementerian Pendidikan Nasional Direktorat Jenderal Pendidikan Nonformal dan Informal Direktorat Pendidikan Kesetaraan.

Armagan, A., Efkan, U., H. Ramazan, Y., Sedat, S., Taylan, O., and Nurten, O. 2006. Effects of Melatonin on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Testis. **Asian J Androl** 8(5): 595-600.

Baird, S.K., T. Kurz., and T. Brunk., 2006. Metallothionein Protects Against Oxidative Stress Induced Lysosomal Destabilization. **Biochem. J** 15: 275 – 28.

Barrett, K., Brooks, H., Boitano, S., and Barman, S. 2010. **Ganong's: Review of Medical Physiology 23<sup>rd</sup> Ed.** USA: The McGraw-Hill Companies.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., and Stryer, L. 2012. **Biochemistry 7<sup>th</sup> Ed.** New York: W.H. Freeman and Company.

Butler, L.K. 1995. **Regulation of Blood Glucose Levels in Normal and Diabetic Rats**. Texas : Division of Biological Science. University of Texas. Austin. 181-202

Brotowidjoyo, M. D., Tribawono, D., dan Mulbyantoro, E. 1995. **Pengantar Lingkungan Perairan dan Budidaya Air**. Yogyakarta: Liberty.

Corwin, E. J. 2001. **Buku Saku Patofisiologi**. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Courtenay Jr, W. R and James, D. W., 2004. **Snakeheads (Pisces, Channidae)- A Biological Synopsis and Risk Assessment**. US: Geological Survey Circular 1251.

Davi, G., Falco, A., dan Patrono, C. 2005. Forum Review: Lipid Peroxidation in Diabetes Mellitus. **Antioxidants & Redox Signaling** 7(1-2): 256-268

Dawn, M., Allan, M., dan Colleen, S. 2000. **Biokimia Kedokteran Dasar**. Jakarta: EGC.

Droge, W. 2002. Free Radicals in The Physiology Control of Cell Function. **Physiol. Rev** 82:47-95.

Ernawati. 2012. Efek Antioksidan Asap Cair terhadap Sifat Fisiko Kimia Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) Asap Selama Penyimpanan. **Jurnal Teknologi Pangan** Vol 4 No 1.

Fatani, A. J., Al-Rejale, S., Abuhashish, H. M., Al-Assaf, A., Parmar, M. Y., and Ahmed, M. M. 2015. Lutein Dietary Supplementation Attenuates Streptozotocin-induced Testicular Damage and Oxidative Stress in Diabetic Rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine** 15:204.

Fauzi, T. 2008. Pengaruh Pemberian Timbal Asetat dan Vitamin C terhadap Peroksidasi Lipid dan Kualitas Spermatozoa di dalam Sekresi Epididimis Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) strain DDW. **Tesis**. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Forbes, J. M., Melinda, T. C., and Mark, E. C. 2008. Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease in Diabetes. **Diabetes** 57(6): 1446-1454.

Gobbo, M. G., Dizeyi, N., Abrahamsson, P., Bertilsson, P., Masiteli, V. S., Pytlowanciv, E. Z., Taboga, S. R., and Goes, R. M. 2015. Influence of Melatonin on the Proliferative and Apoptotic Responses of the Prostate Under Normal and

Hyperglycemic Conditions. **Journal of Diabetes Research** 2015:1-18.

Grotto, D., Maria, L. S., Valentini, J., Paniz, C., and Garcia. 2009. Importance of The Lipid Peroxidation Biomarkers and Methodological Aspects For Malondialdehyde Quantification. **Quin Nova** 32(1): 169-174.

Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Antioxidants: Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. **Plant Physiology** 141: 312-322

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1999. **Free Radical in Biology and Medicine** 3<sup>rd</sup> ed. New York: Oxford University Press.

Halliwell, B. and Whiteman, M. 2004. Measuring Reactive Species and Oxidative Damage in vivo and in cell Culture: How Should You Do It and What do The Results Mean. **Br J Pharmacol** 142(2): 231-255.

Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M., and Lawal, A. 2010. Antioxidants: Its Medicinal and Pharmacological Applications. **African Journal of Pure and Applied Chemistry** 4(8): 142-151.

Hardiyani, S. 2013. Pengaruh Seduhan Bubuk Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus* L) Strain Balb-C Diabetik Setelah Pemaparan Aloksan. **Skripsi**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Held, P. 2014. **An Introduction to Reactive Oxygen Species: Measurement of ROS in Cells**. <http://www.biotech.com/resources/articles/reactive-oxygen-species.html> [30 September 2015].



Hendromartono, S. 2000. Peran radikal bebas terhadap komplikasi vaskuler. **Majalah Penyakit Dalam Udayana** 1:89-92.

Hermiyanti, P., Mukono, H. J., and Notopuro, H. 2015. Lipid Peroxidation and Respiratory Disorders to The Workers Pool. **International Journal of Scientific Research and Management** 3(7): 3301-3304.

Ilyas, S., Ardinata, D., dan Meldawati. 2011. Pengaruh Ekstrak Buah Morinda Citrifolia Linn Terhadap Kualitas, Kuantitas Sperma Dan Kadar Malondialdehyde Testis Tikus Wistar Diabetes Mellitus. **Tesis**. Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Inoue, M. 2001. **Protective Mechanisms Against Reactive Oxygen Species**. In: Arias IM The liver biology and pathobiology Lippincott Williams and Wilkins 4th-ed. Philadelphia. 281-290.

Jusman, S. W.A., Sadikin, M., Prasetyati, dan Azizahwati. 1995. Bawang Prei (*Allium fistulosum* Linn) dan metabolisme: Penghambat kenaikan kandungan peroksida lipid hati karena radikal bebas pada tikus yang diratembagani CCl<sub>4</sub>. **Majalah Kedokteran Indonesia** 45(10): 588-591.

Jyoti, A. and Anand, K. 2014. Chronic Treatment of Diabecon in The Regulation of Alloxan Induced Hyperglycemia and Oxidative Stress in Different Tissues of Adolescent Diabetic Rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 6(4): 83-87.

Kanter, M., Aktas, C., and Erboga, M. 2012. Protective Effects of Quercetin Against Apoptosis and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Testis. **Food Chem Toxicol** 50: 719-725.



Kheradmand, A., Alirezaei, M., Asadian, P., Alavi, E. R., and Joorabi, S. 2009. Antioxidant Enzyme Activity and MDA level in The Rat Testes Following Chronic Administration of Ghrelin. **Andrologia** 41: 335-340.

Koksal, I. T., Usta, M., Orhan, I., Abbasoglu, S., Kadioglu, A. 2003. Potential Role of Reactive Oxygen Species on Testicular Pathology Associated With Infertility. **Asian J Androl** 5: 95-99.

Kumar, V., Abdul, K. A., and Nelson, F. 2005. **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease 7<sup>th</sup> Edition**. Philadelphia: Elsevier Saunders.

Lenzen, S. 2008. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced. **Diabetologia** 51: 216-226.

Laurence, D.R. and A.L. Bacharach, 1964. **Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics**. New York: Academic Press. pp: 135-179.

Manika, W., Tomaszewska, Sutama, I. K., Putu, I. G., dan Chaniago, T. D. 1991. **Reproduksi, Tingkah Laku dan Reproduksi Ternak di Indonesia**. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

Maslachah, L., Sugihartuti, R., dan Kurniasanti, R. 2008. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida ( $O_2^-$ ) oleh Antioksidan Vitamin E ( $\alpha$ -Tocopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menderita Stressor Renjatan Listrik. **Media Kedokteran Hewan** 24(1): 21-26.

Mates, J. M., Aledo, J. C., Perez-Gomez, C., Del Valle, A. E., Segura, J. M. 2000. Interrelationship between oxidative damage and antioxidant enzyme activities: an easy and rapid experimental approach. **Biochemical Education** 28: 93-95.

Muhamad, N A. and Mohamad, J. 2012. Fatty Acids Composition of Selected Malaysian Fishes (Komposisi Asid Lemak Ikan Terpilih Malaysia). **Sains Malaysiana** 41(1): 81–94.

Niedowicz, D. M. and David, L. D. 2005. The Role of Oxidative Stress in Diabetic Complication. **Cell Biochem Biophys** 43(2): 289-330.

Nugroho, A. E. 2006. Review: Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. **Biodiversitas** 7(4): 378-382.

Nugroho, M. 2012. Isolasi Allbumin dan Karakteristik Berat Molekul Hasil Ekstraksi Secara Pengukusan Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). **Jurnal Teknologi Pangan** Vol 4 No 1.

Oghenesuvwe, E. E., Ekene, N. E., and Ajaghaku, D. L. 2014. Guidelines on Dosage Calculation and Stock Solution Preparation Experimental Animals Studies. **Journal of Natural Sciences Research** 4(18): 100-106.

Palmeira, C. M., Santos, D. L., Seica, R., Moreno, A. J., and Santos, M. S. 2001. Enhanced Mitochondrial Testicular Antioxidant Capacity in Goto-Kakizaki Diabetic Rats: Role of Coenzyme Q. **Am J Physiol Cell Physiol** 281: 1023–1028.

Pasupathi, P. 2009. Glutathione, Glutathione-Dependent Enzymes and Antioxidant Status in Gastric Carcinoma Patients. **Journal of Applied Biomedicine** 7(2): 101-109.

Pitocco, D., Zaccardi, F., Di Stasio, E., Romitelli, F., Santini, S. A., Zuppi, C., Ghirlanda, G. 2010. Oxidative Stress, Nitric Oxide, and Diabetes. **The Review of Diabetic Studies** 7(1):15-25.

Radenkovic, M., Stojanovic, M., and Prostran, M. 2016. Experimental Diabetes Induced by Alloxan and Streptozotocin:

The Current State of The Art. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods** 78: 13-31.

Reinauer, H., Philip, D. H., Ariyur, S. K., and Claus, C. H. 2002. **Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus**. Geneva: World Health Organization.

Retno, T., Widyastuti, S. K., Suarsana, N. 2012. Pengaruh Pemberian Isoflavon terhadap Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus Normal. **Indonesesia Medicus Veterinus** 1(4): 483-491.

Ricci, G., Catizone, A., Esposito, R., Pisanti, A., Vietri, M. T., Galdieri, M. 2009. Diabetic Rat Testes: Morphological and Functional Alterations. **Andrologia** 41: 361-368.

Rohilla, A. and Ali, S. 2012. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences** 3(2): 819-823.

Ruhe, P and McDonald, R. 2001. Use of Antioxidant Nutrient in The Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. **Journal of The American College of Nutrition** 20(5): 363-369.

Santoso, A. H. 2009. Potensi Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) sebagai Hepatoprotector pada Tikus yang Diinduksi dengan Parasetamol. **Tesis**. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Santoso, A. H. Astawan, M., dan Wresdiyati, T. 2012. Potensi Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Sebagai Stabilisator Albumin, SGOT dan SGTP Tikus yang Diinduksi dengan Parasetamol Dosis Toksis. **Jurnal Politeknik Kesehatan Malang**.

Saxena, R. and Lal, A.M. 2006. Effect of Aging on Antioxidant Enzyme Status and Lipid Peroxidation. **Journal of The Indian Academy of Geriatrics**. Vol 2 No 2.



Scholichah, N. A., Aulanni'am, dan Chanif, M. 2012. Efek Terapi Ekstrak Air Daun Kedondong (*Lannea coromandelica*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Protease pada Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Inflammatory Bowel Disease (IBD) Akibat Paparan Indometasin. **Veterinaria Medika** 5(3): 187-194.

Setiawan, B dan Suhartono, E. 2005. Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. **Majalah Kedokteran Indonesia**. Vol 55 No 2.

Setiawan, B dan Suhartono, E. 2007. Peroksidasi Lipid dan Penyakit Terkait Stres Oksidatif pada Bayi Prematur. **Majalah Kedokteran Indonesia** Vol 57 No 1.

Shafri, M. and Manan, A. 2012. Therapeutic Potential of the Haruan (*Channa striatus*): From Food to Medical Uses. **Malaysian Journal of Nutrition** Vol 18 No 1.

Shayakhmetova, G. M., Bondarenko, L. B., and Kovalenko, V. M. 2012. Damage of Testicular Cell Macromolecules and Reproductive Capacity of Male Rats Following Co-Administration of Ethambutol, Rifampicin, Isoniazid Acid and Pyrazinamide. **Interdiscip Toxicol** 5(1): 9-14.

Soegondo, S. 2005. **Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Mellitus Terkini, dalam Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu**. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Soviana, E., Banundari, R., dan Nyoman, S. W. 2014. Pengaruh Suplementasi  $\beta$ -carotene Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kadar Malondialdehida pada Tikus *Sprague dawley* yang Diinduksi *Streptozotocin*. **Jurnal Gizi Indonesia** 2(2): 41-46.

Suarsana, I. N., Wresdiyati, T., dan Suprayogi, A. 2013. Respon Stres OKsidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas



Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. **JITV** 18(2): 146-152.

Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., dan Setiyati, K. S. 2007. **Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 3 Edisi 4**. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Sunarno. 2015. Potential of Glutathione Antioxidant in Hippocampus Repair: Preliminary Study Bioactive Materials Antiaging of Snakehead Fish (*Channa striata*) in Animal Models of Aging. **International Journal of Science and Engineering** 8(1): 22-25.

Sunatrio, S. 2003. **Peran Albumin pada Penyakit Kritis dalam Konsesus Pemberian Albumin Pada Sirosis Hati**. Jakarta: FKUI Press.

Suparman, E. 2012. Kadar Lipid Peroksida pada Kehamilan Normotensi dan Preeklampsia. **Majalah Obstetri & Ginekologi** 20: 65-71.

Suprayitno, E. 2003. **Albumin Ikan Gabus sebagai Makanan Fungsional Mengatasi Permasalahan Gizi Masa Depan**. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Suprayitno, E., A. Chamidah, dan Carvallo. 2008. Albumin Ikan Gabus (*Channa striata*) Sebagai Makanan Fungsional Mengatasi Permasalahan Gizi Masa Depan. **Rapat Terbuka Senat: Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar dalam Ilmu Biokimia Ikan**. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Sutari, V. T., Sugito, Aliza, D., dan Asmarinda. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) Pada Jaringan Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Cekaman Panas dan Pakan Suplementasi Teping Daun Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). **Jurnal Medika Veterinaria** 7(1): 35-38

Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. **Physiol Res** 50: 536-543.

Tang, W. H., Martin, K. A., and Hwa, J. 2012. Aldose Reductase, Oxidative Stress, and Diabetic Mellitus. **Frontiers in Pharmacology: Experimental Pharmacology and Drug Discovery** Vol 3 Article 87.

Toelihere, M. R. 1985. **Fisiologi Reproduksi pada Ternak**. Bandung: Penerbit Angkasa.

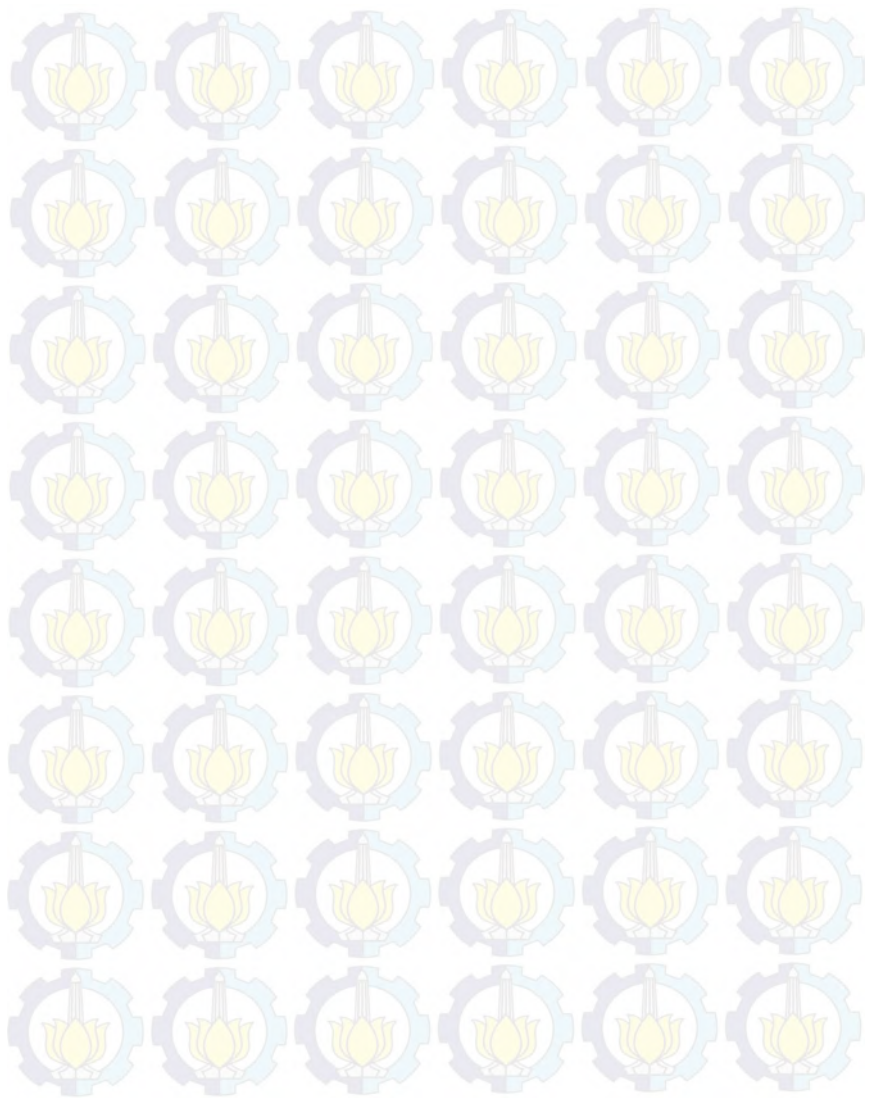
Tremellen, K. 2008. Oxidative Stress and Male Infertility-A Clinical Perspective. **Human Reproduction Update** 14(3): 243-258.

Utiger, R. D. 2013. **Testis Anatomy**. <http://www.britannica.com/science/testis> [07 Oktober 2015].

Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi Dan Aplikasinya Dalam Kesehatan**. Yogyakarta: Kanisius.

Yuniarti, D. W., Sulistiyati, T. D., dan Suprayitno, E. 2013. Pengaruh Suhu Pengeringan Vakum Terhadap Kualitas Serbuk Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). **THPi Student Journal** 1(1): 1-9.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## BIODATA PENULIS



Ayu Sekartaji Kartikamurti Hadi Kusumo yang akrab disapa dengan nama Ayu dilahirkan di Tangerang pada tanggal 22 September 1993 sebagai anak ketiga dari empat bersaudara. Penulis memulai pendidikan dasar di SD Islam YAKMI dan melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Tangerang lalu di SMAN 10 Tangerang dan lulus pada tahun 2011. Pada tahun yang sama penulis lulus seleksi masuk ITS melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri Tulis dan diterima di Jurusan Biologi FMIPA ITS. Penulis berminat dibidang Zoologi dan Mikrobiologi. Selama kuliah di Institut Teknologi Sepuluh November, penulis pernah bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Biologi ITS periode kepengurusan 2013/2014 sebagai bendahara Departemen Entrepreneur. Penulis juga sempat menjadi asisten praktikum beberapa mata kuliah seperti Perkembangan Hewan, Mikrobiologi, Mikrobiologi Industri dan Fisiologi Hewan. Pada tahun 2014, penulis mengambil kerja praktek selama satu bulan di Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor dan berhasil menyelesaikan kerja prakteknya dengan judul “Pengujian Antibodi Antraks pada Sampel Serum Darah Sapi dan Domba dengan Menggunakan Metode ELISA”. Ketertarikan penulis terutama pada bidang Zoologi mendorong penulis untuk menerima dan melakukan Proyek Tugas Akhir yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Terhadap Aktivitas Antioksidan pada Organ Testis Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik”.